

# **SUPLEMENTAÇÃO DE GORDURA PROTEGIDA E PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE CABRAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária. Área de Concentração: Clínica e Reprodução Animal.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2012.

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão - orientador  
Faculdade de Veterinária – UFF

---

Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca - coorientador  
Embrapa Caprinos e Ovinos – Núcleo Regional Sudeste

---

Profa. Dra. Carla Aparecida Florentino Rodrigues - coorientadora  
Faculdade de Veterinária - UFF

---

Dra. Maria Izabel Carneiro Ferreira  
Embrapa Caprinos e Ovinos - Núcleo Regional Sudeste

---

Prof. Dr. André Luis Rios Rodrigues  
Faculdade de Veterinária – UFF

NITERÓI  
2012

## AGRADECIMENTOS

À minha família por todo apoio durante esses meus anos dedicados ao estudo da medicina veterinária.

Aos amigos, feitos durante o mestrado e àqueles que já vêm da graduação, pela companhia, ajuda e momentos de descontração.

Ao meu namorado por estar sempre ao meu lado quando preciso.

Ao Professor e orientador Dr. Felipe Zandonadi Brandão, por me aceitar como orientada me dando a oportunidade de realizar o mestrado na UFF e pelos ensinamentos e ‘puxões de orelha’ para que eu pudesse ter êxito.

Aos coorientadores, Dr. Jeferson Fonseca e Professora Dra. Carla Florentino, pela ajuda indispensável para que este experimento desse certo.

À amiga Luciana pela disponibilidade, paciência, ajuda e incentivo durante a realização do experimento. Pelos momentos de diversão passados em Coronel Pacheco essenciais para que esse projeto tenha chegado ao fim.

Aos amigos João, Luiz Fernando, Natécio e Cidrônio pela ajuda indispensável, e pela boa vontade e bom humor durante todos os dias do experimento.

Ao Dr. José Henrique Bruschi (*in memoriam*) e a Dra. Marlene Bruschi por disponibilizarem os animais da propriedade Granja Água Limpa, sem os quais esse experimento não teria sido realizado.

Às Professoras Dra. Eunice Oba e Dra. Elyzabeth Cardoso, pela disponibilização do laboratório e pela ajuda com as análises sanguíneas.

Ao CNPq pela concessão de bolsas de estudos.

À FAPERJ pelo financiamento deste projeto (E-26/110.095/2009).

## RESUMO

O presente estudo propôs a avaliação da suplementação de gordura protegida durante protocolo curto de indução de estro sincronizado sobre parâmetros reprodutivos de cabras leiteiras. Para tal foram investigados três níveis de inclusão de gordura protegida na dieta: grupo controle (C); suplementação de 1% de gordura protegida (C+1%) e suplementação de 4% de gordura protegida (C+4%). Trinta e dois animais foram divididos em três grupos aos quais foram ofertadas dietas com os diferentes percentuais de gordura protegida pelo período de seis dias e sincronizadas com uso de dispositivos intravaginais contendo 60mg de acetato de medroxiprogesterona que permaneceu por um período de seis dias e administração de uma dose de eCG (200UI) e d-cloprostenol (0,04 mg), 24 horas antes da retirada dos implantes. Avaliações ultrassonográficas foram realizadas diariamente após o início da suplementação. O estro foi monitorado após a retirada dos implantes de progesterona. Não foi encontrada diferença entre grupos em relação a manifestação de estro (C: 100,0%; C+1%: 100,0%; C+4%: 90,9%,  $P>0,05$ ). O intervalo da retirada da esponja ao início do estro foi de  $28,0\pm12,0$ ;  $32,8\pm11,6$ ;  $30,4\pm9,5$  horas para C; C+1% e C+4% respectivamente, e não diferiu entre grupos ( $P>0,05$ ). Em relação à duração do estro, também não foi encontrada diferença ( $P>0,05$ ) entre grupos (C -  $31,6\pm12,3$ ; C+1% -  $43,2\pm12,9$ ; C+4% -  $40,8\pm14,1$ ). O intervalo do início do estro à ocorrência da ovulação, em horas, foi menor ( $P<0,05$ ) no C+4% ( $18,3\pm11,0$ ) do que nos demais grupos (C -  $30,6\pm10,5$ ; C+1% -  $30,3\pm11,1$ ), que não diferiram entre si ( $P>0,05$ ). O percentual de animais que ovularam não apresentou diferença entre grupos (100%; 90% e 100% para C, C+1%, C+4% respectivamente). A respeito do intervalo da retirada da esponja à ovulação, o grupo C+4% apresentou um intervalo menor ( $45,2\pm8,0$  horas;  $P<0,05$ ) quando comparado aos demais grupos (C -  $56,3\pm12,6$  C+1% -  $57,7\pm8,7$  horas) que não diferiram entre si ( $P>0,05$ ). A taxa de ovulação foi de  $1,3\pm0,5$  para C,  $1,1\pm0,3$  para C+1% e de  $1,2\pm0,4$  para C+4%, não tendo sido encontrada diferença entre grupos ( $P>0,05$ ). O diâmetro do maior folículo, considerado como o folículo ovulatório, foi menor ( $P<0,05$ ) no grupo C+4% ( $6,2\pm0,7$  mm) quando comparado com o grupo C ( $7,5\pm0,8$  mm), entretanto C+4% não diferiu de C+1% ( $7,0\pm1,5$  mm) que também não diferiu de C ( $P>0,05$ ). Coletas sanguíneas foram realizadas em diferentes tempos para dosagem de insulina, IGF1, progesterona e glicose. As concentrações plasmáticas de insulina e IGF1 não demonstraram variações, quer seja em relação ao tratamento ou em relação ao tempo. A concentração plasmática de  $P_4$  não apresentou diferença entre tratamentos, entretanto apresentou diferença entre tempos. O T4, dez dias após a retirada dos implantes de  $P_4$ , apresentou concentrações maiores que os demais tempos, nos três grupos. As concentrações de glicose não apresentaram diferença entre grupos, mas sim entre tempo, tendo sido T3 (no dia da retirada dos implantes de  $P_4$ ) o tempo com a maior concentração de glicose nos três grupos ( $65,3\pm6,5$ ;  $63,3\pm6,9$ ;  $69,1\pm8,9$  mg/dL, C, C+1%, C+4%, respectivamente). Através dos resultados obtidos, podemos concluir que a suplementação durante o período de protocolo curto de indução e sincronização de estro não se mostrou eficaz em aumentar a taxa de ovulação, mas demonstrou efeitos sobre o intervalo do início do estro e da retirada dos implantes à ovulação.

**Palavras-chave:** flushing, taxa de ovulação, insulina, glicose, IGF1, progesterona, cabras

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the supplementation of fatty acid during short term protocol of induction and synchronization of estrus on reproductive performance of dairy goats. 32 goats were divided in three groups according to the percentual of fatty acid inclusion on the diet: Control group (C), with no inclusion of fatty acid; inclusion of 1% of fatty acid on the diet (C+1%); and inclusion of 4% of fatty acid on the diet (C+4%). Estrus were induced and synchronized by the use of intravaginal sponges impregnated with 60mg of medroxyprogesterone acetate that remained in the dams for 6 days. 24 hours before sponge removal an intramuscular injection of eCG (200 IU) and of d-Cloprostenol (0,04mg) were given. Ultrasound examinations were made in order to detect ovulation rate. Animals in estrus did not differ between groups (C – 100.0%; C+1% - 100.0%; C+4% - 90.9%,  $P>0.05$ ). The interval between sponge removal and estrus beginning was  $28.0\pm12.0$ ;  $32.8\pm11.6$ ;  $30.4\pm9.5$  hours for C; C+1% e C+4% respectively and had no differences between groups ( $P>0.05$ ). No differences ( $P>0.05$ ) were found on estrus length either (C –  $31.6\pm12.3$ ; C+1% -  $43.2\pm12.9$ ; C+4% -  $40.8\pm14.1$ ). Interval between estrus beginning and ovulation, in hours, was shorter ( $P<0.05$ ) for C+4% ( $18.3\pm11.0$ ) than in others groups (C  $30.6\pm10.5$ ; C+1%  $30.3\pm11.1$ ) that showed no difference ( $P>0.05$ ). There was no differences between groups ( $P>0.05$ ) for animals ovulating (100.0%; 90.0% and 100.0% for C, C+1%, C+4% respectively). Time between sponge removal and ovulation was shorter for C+4% ( $45.2\pm8.0$  hours;  $P<0.05$ ) comparing to other groups that showed no differences (C -  $56.3\pm12.6$  C+1% -  $57.7\pm8.7$  hours,  $P>0.05$ ). Ovulation rate did not differ ( $P>0.05$ ) between groups (C –  $1.3\pm0.5$ ; C+1%:  $1.1\pm0.3$ ; C+4%:  $1.2\pm0.4$ ). Size of ovulatory follicle was smaller for C+4% ( $6.2\pm0.7$  mm) when compared to C ( $7.5\pm0.8$  mm), but C+4% did not differ from C+1% ( $7.0\pm1.5$  mm) that showed no differences from C ( $P>0.05$ ) either. Samples were obtained from jugular vein, during the morning at different times. Insulin as well as IGF1 profile had no differences between groups ( $P>0.05$ ). Progesterone profile had no differences between groups ( $P>0.05$ ), but T4 had higher concentrations than others times of collections. Glucose profile had no differences between groups as well ( $P>0.05$ ) but on T3 concentrations were higher for all groups ( $65.3\pm6.5$ ;  $63.3\pm6.9$ ;  $69.1\pm8.9$  mg/dL, C, C+1%, C+4%, respectively). By this results we can conclude that inclusion of fatty acid during short term protocol of induction and synchronization of estrus was not able to induce changes on ovulation rates, but was able to induce changes in others parameters of reproduction.

**Key Words:** flushing, ovulation rate, insulin, glucose, IGF1, progesterone, goats

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	p.13
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	p.14
2.1 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO	p.14
2.1.1 Ciclo estral e estacionalidade reprodutiva	p.14
2.1.2 Dinâmica folicular	p.15
2.1.2.1 Formação do corpo lúteo	p.20
2.1.3 Perfil hormonal e fatores de crescimento ovarianos	p.21
2.1.3.1 IGF1	p.22
2.1.3.2 Insulina	p.23
2.2 BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO	p.24
2.2.1 Indução e sincronização de estro	p.24
2.2.2 Ultrassonografia ovariana	p.27
2.3 NUTRIÇÃO	p.29
2.3.1 Gordura Protegida	p.29
2.3.2 Nutrição e reprodução	p.31
2.3.2.1 Influências nutricionais sobre o desenvolvimento folicular	p.34
2.3.2.1.1 <i>Insulina</i>	p.38
2.3.2.1.2 <i>IGF1</i>	p.39
2.3.2.1.3 <i>Progesterona</i>	p.40
2.3.2.1.4 <i>Glicose</i>	p.42
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	p.44
3.1 LOCAIS DO EXPERIMENTO	p.44
3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	p.44
3.2.1 Fêmeas	p.44
3.2.2 Machos	p.45
3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS	p.46
3.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO	p.47
3.5 AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR E OVULATÓRIA	p.48

3.6 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL E MONTA CONTROLADA,	p.49
3.7 COLETAS DE SANGUE PARA DOSAGENS HORMONAIS E METABÓLICAS,	p.49
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS,	p.50
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO,</b>	<b>p. 53</b>
4.1 PESO ESCORE DA CONDIÇÃO CORPORAL,	p.53
4.2 COMPORTAMENTO SEXUAL,	p.54
4.3 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA,	p.58
4.4 AVALIAÇÃO HORMONAL,	p.61
4.5 AVALIAÇÃO METABÓLICA,	p.66
<b>5 CONCLUSÃO,</b>	<b>p.69</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS,</b>	<b>p.70</b>
<b>7 ANEXOS,</b>	<b>p.101</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 As influências dos efeitos imediato, dinâmico e estático da nutrição sobre a taxa de ovulação de ovelhas. Fonte: Adaptado de SCARAMUZZI et al (2006), p.33

Figura 2 Representação esquemática da duração de diferentes tratamentos de suplementação energética, aplicados em diferentes estudos. O comprimento da barra representa a duração do tratamento como um todo. Preenchimento em preto indica o tempo em que a suplementação energética demonstrou efeito positivo e em cinza, quando demonstrou efeito negativo ou nenhum efeito. Fonte: Adaptado de VIÑOLES (2003), p.37

Figura 3 Representação esquemática dos tempos de coletas sanguínea realizadas durante experimento de suplementação energética em cabras Toggengurg. T0: dia anterior à inserção dos implantes de progesterona; T1: dois dias após a inserção dos implantes de progesterona; T2: dois dias antes da retirada dos implantes; T3: no dia da retirada dos implantes; T4: dez dias após a retirada dos implantes, p.50

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 Exigências nutricionais, p.46

Tabela 2 Composição bromatológica dos ingredientes utilizados na confecção da dieta, p.46

Tabela 3 Formulação da ração ofertada a cabras Toggenburg submetidas à diferentes níveis de inclusão de gordura protegida na dieta durante protocolo curto de indução de estro sincronizado, p.47

Tabela 4 Quantidade de dieta ofertada diariamente a cabras Toggenburg submetidas à diferentes níveis de gordura protegida na dieta durante protocolo curto de indução de estro sincronizado, p.47

Tabela 5 Avaliação do peso corporal (PC) e escore da condição corporal (ECC) de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante protocolo hormonal curto de indução de estro sincronizado (média  $\pm$  desvio padrão), p.53

Tabela 6 Avaliação do comportamento sexual de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução de estro sincronizado (média  $\pm$  desvio padrão), p.54

Tabela 7. Avaliação ultrassonográfica de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro (média  $\pm$  desvio padrão), p.58

Tabela 8 Concentrações circulantes de insulina ( $\mu$ UI/mL), IGF1 (ng/mL) e progesterona (ng/mL) em diferentes momentos, de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura



protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro (média  $\pm$  desvio padrão), p. 62

Tabela 9 Dosagens de glicose (mg/dL), em diferentes tempos, de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro(média  $\pm$  desvio padrão), p.67

## LISTA DE ABREVIATURAS

µg – microgramas  
µUI – micro unidade internacional  
CL – corpo lúteo  
ECC- escore da condição corporal  
eCG – gonadotrofina coriônica equina  
FGA – acetato de fluorogestona  
FSH – hormônio folículo estimulante  
GH – hormônio de crescimento  
GnRH – hormônio liberador de gonadotrofinas  
hCG – gonadotrofina coriônica humana  
IATF – inseminação artificial em tempo fixo  
IGF- fator semelhante à insulina  
IGFBP – proteína de ligação do fator semelhante à insulina  
Kg- quilograma  
LH – hormônio luteinizante  
MAP – acetato de medroxiprogesterona  
mg – miligramas  
MHz- megahertz  
mL – mililitro  
mm – milímetros  
mRNA – ácido ribonucleico mensageiro  
NDT – nutrientes digestíveis totais  
ng/ml – nanograma por mililitro  
P<sub>4</sub> – progesterona  
PC – peso corporal  
PGF<sub>2α</sub> - prostaglandina F<sub>2α</sub>  
UI – unidade internacional

## 1 INTRODUÇÃO

A caprinocultura visando à produção leiteira é uma atividade em expansão na região Sudeste do Brasil. Segundo dados da Produção da Pecuária Municipal do IBGE em 2009, o rebanho caprino no Brasil correspondia a 9.164.421 cabeças, sendo dessas, apenas 231.738, na região Sudeste. Apesar do elevado efetivo caprino e da forma acentuada como vem se desenvolvendo no país nos últimos anos, onde o crescimento estimado por FONSECA (2005) é de cinco vezes o rebanho atual, os níveis de produção e produtividade dos rebanhos nacionais são ainda bastante inferiores aos encontrados nos países desenvolvidos por ser uma atividade geralmente desenvolvida com baixo nível tecnológico.

Por razões fisiológicas (inerentes às espécies ovina e caprina), comerciais, técnicas ou mesmo de manejo, o uso da sincronização e/ou indução de estro podem ser justificadas. Cabras são animais poliéstricos estacionais de dias curtos. Isto significa que o estro estará concentrado em um período de tempo definido durante o ano, onde o fotoperíodo (número de horas de luz por dia) diminui. O uso deste tratamento, em fêmeas em anestro, permite o planejamento da época dos partos e aumenta a eficiência produtiva do rebanho, permitindo planejamento também da oferta de produtos ao mercado em período economicamente mais interessante (MAIA & BEZERRA, 2010).

Sabe-se que a nutrição tem papel importante no desempenho reprodutivo de mamíferos em geral, seja essa influência a curto ou longo prazo, tendo os níveis de energia como principal fator determinante para melhor eficácia reprodutiva, demonstrando, por exemplo, um aumento nas taxas de ovulação (ROBINSON et al., 2006).

Em relação a pequenos ruminantes podem ser encontrados um número relativo de dados desta influência na espécie ovina, existindo uma carência de literatura com relação aos caprinos. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do aumento nos níveis de gordura na dieta de cabras da raça Toggenburg sobre o seu desempenho reprodutivo durante protocolo curto de indução de estro.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO**

#### **2.1.1 Ciclo estral e estacionalidade reprodutiva**

Cabras são animais poliéstricos estacionais de dias curtos que apresentam um padrão sazonal na atividade reprodutiva de acordo com as variações anuais de fotoperíodo. São assim denominadas por apresentarem vários ciclos estrais no período em que ocorre a diminuição das horas de luz/dia. A duração do ciclo estral é definida como o intervalo entre duas manifestações de estro sucessivas ou entre duas ovulações sucessivas e possui duração média de 21 dias podendo sofrer variações de 17 a 25 dias (RICARTE & SILVA, 2010; FATET et al., 2011) de acordo com a raça, comportamento e/ou condições ambientais. Em um estudo realizado com cabras Boer (GREYLING, 2000), a duração do ciclo estral foi de  $20,7 \pm 7$  dias com alta incidência de ciclos curtos ( $<13$  dias) e longos ( $>25$  dias).

O ciclo estral pode ser dividido em quatro fases: proestro, quando ocorre a seleção, o crescimento e a maturação de folículos dependentes de gonadotropinas; estro, quando ocorre a ovulação de um folículo dominante e corresponde ao período em que a fêmea está receptiva ao macho, podendo variar de 24 a 48 horas com média de 36 horas (MACHADO & SIMPLÍCIO, 1995) e a ovulação ocorrendo nos caprinos, em geral, no terço final do estro (CAMP et al., 1983); metaestro, que se inicia a partir da ovulação, quando, em aproximadamente cinco dias após o início do estro, as células do folículo ovulatório se transformam em células luteais do corpo lúteo (CL); e diestro, quando ocorre a involução do CL na ausência de uma gestação.

Entretanto, classicamente, divide-se o ciclo estral em duas fases de acordo com o hormônio predominante: a fase folicular, que compreende o proestro e estro, e a fase luteal, correspondendo ao metaestro e diestro, com duração aproximada de quatro e 17 dias, respectivamente. Na primeira há predominância de estrógenos enquanto na segunda fase o hormônio predominante é a progesterona (SIMPLÍCIO et al., 2000, FATET et al, 2011).

O ciclo estral é a sequência de eventos endócrinos regulados pelo hipotálamo, pela hipófise, pelos ovários (folículos e corpos lúteos) e pelo útero (VIÑOLES, 2003). O decapeptídeo hipotalâmico, hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), é considerado a chave molecular no controle da reprodução (SISK & FOSTER, 2004). O GnRH é liberado dentro da veia porta hipofisária e atua na hipófise regulando a síntese e secreção do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH). Estes, por sua vez, comandam o desenvolvimento e as funções das gônadas (OKAMURA & OHKURA, 2007).

São vários os fatores que afetam a liberação do GnRH, entre eles a nutrição e o fotoperíodo. O fotoperíodo é caracterizado como a mudança anual da duração dos dias e, de acordo com ROSA & BRYANT (2003), esse é o agente sincronizante mais comumente usado pelos animais estacionais.

O fotoperíodo é percebido pela retina e transmitido por estímulos nervosos, que envolvem o núcleo supraquiasmático e o gânglio cervical superior, à glândula pineal que interpreta a mensagem e regula o ritmo de secreção da melatonina. Este hormônio é produzido somente durante a noite e por isso sua secreção difere entre dias curtos e longos (MALPAUX et al., 1996), tendo sua maior secreção em dias curtos.

As mudanças no padrão de secreção de melatonina que são produzidas nas distintas épocas do ano afetam a secreção pulsátil do GnRH que por sua vez influencia na liberação dos hormônios gonadotrópicos (FSH e LH) pela hipófise (PADNAMABHAM et al., 1997).

### **2.1.2 Dinâmica folicular**

Antes da senescência reprodutiva, os ovários de mamíferos possuem um “pool” de folículos primordiais que consistem de um oócito na prófase I da meiose e uma única camada de células da granulosa achatada. Este “pool” se desenvolve durante a vida fetal em ruminantes (MARION & GIER, 1971). Uma vez estabelecido, os folículos deixam este “pool” e iniciam seu crescimento de forma gradual e contínua, e podem então, ovular ou sofrer atresia, entretanto, sabe-se que grande parte dos folículos não chega à ovulação (FORTUNE, 1994).

O desenvolvimento folicular ovariano em forma de ondas foi primeiramente descrito por RAJAKOSKI (1960) em bovinos, que constatou que o número de folículos maiores de 5mm de diâmetro não era uniformemente distribuído através do ciclo estral e que esses aparentemente cresciam em um padrão de duas ondas.

Estudos em cabras indicaram que folículos ovulatórios durante o ciclo estral também exibem um padrão de crescimento em ondas, que podem variar de duas a cinco por ciclo (MEDAN et al., 2003; MEDAN et al., 2005; MAIA & BEZERRA, 2010), mas o padrão predominante para cabras que desenvolvem um ciclo de duração normal é de quatro ondas (GINTHER & KOT, 1994; DE CASTRO et al., 1999)

Uma onda folicular envolve a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais do qual comumente um ou dois folículos são selecionados para continuar seu crescimento a mais de 5mm de diâmetro. A emergência das ondas 1, 2, 3 e 4 (onda ovulatória) ocorre nos dias 0, 5-6, 10-11 e perto do dia 15, respectivamente. Em cabras que desenvolvem três ondas, a segunda onda emerge de um a dois dias após a primeira e a onda ovulatória emerge de um a dois dias antes (RUBIANES & MENCHACA, 2003).

Devido a estes eventos, a dinâmica folicular foi dividida em três fases: recrutamento, seleção e dominância.

O recrutamento é definido como o início da foliculogênese dependente de gonadotropinas de um grupo de folículos saudáveis. Somente folículos dependentes de gonadotropinas são recrutados. Isto ocorre durante uma janela de recrutamento, que tem duração de um dia em ovelhas e dois dias em vacas (DRIANCOURT, 2001). A emergência de uma nova onda foi também um termo utilizado para descrever este processo (GINTHER et al., 1996).

A correlação entre o tamanho no recrutamento e tamanho no qual os folículos se tornam dependentes de gonadotropinas parece evidente em ovelhas, ocorrendo normalmente quando os folículos estão entre 2-4 mm (EVANS, 2003). Essa correlação também foi encontrada em primatas (2mm) e no rato (0,2mm). O número de folículos em crescimento no grupo apresenta uma grande variação entre espécies (DRIANCOURT, 2001).

TSONIS et al. (1984) e GIBBONS et al. (1997) ao estudarem um grupo de folículos e realizarem a ablação de todos esses com exceção de um aleatório, em ovelhas e vacas, concluíram que todos os folículos possuem potencial ovulatório já que não houve interferência na sua ovulação.

Evidências demonstram que o padrão de flutuação da concentração de FSH é estritamente associado com a emergência da maior parte das ondas foliculares em ovelhas (BARTLEWSKI et al., 1999; EVANS et al., 2002). Um aumento nas concentrações de FSH comumente precede a emergência de uma onda (ADAMS, 1999; VIÑOLES et al., 2002), e estes folículos em crescimento secretam inibina e 17- $\beta$  estradiol que são responsáveis pelo posterior decréscimo nas concentrações de FSH, por suprimirem sua secreção (MEDAN et al., 2003, 2005).

A seleção folicular é um processo que resulta em um decréscimo no número de folículos em crescimento de uma onda. Neste momento, o número de folículos do grupo se torna ajustado com o número de ovulações (DRIANCOURT, 2001).

Durante a seleção, o folículo dominante é escolhido e os demais folículos se tornam subordinados e entram em atresia. Este fato é usualmente demonstrado por um bloqueio em sua taxa de crescimento seguido de um decréscimo em seu tamanho. Geralmente é assumido que o folículo de maior tamanho no grupo é aquele selecionado para ovulação (GINTHER et al., 1996), mas o processo é muito mais complexo, já que cada folículo é funcionalmente diferente.

O declínio de FSH foi identificado como o componente-chave para o processo de seleção (WEBB et al., 2004), tendo em vista que administrações experimentais de FSH durante uma onda folicular em vacas preveniu a divergência folicular e permitiu o desenvolvimento de múltiplos folículos dominantes (MIHM et al., 1997).

Todos os folículos recrutados aparentam contribuir ao declínio inicial de FSH periférico (GIBBONS et al., 1997), mas o maior folículo tem o principal papel na continuação desta queda nas concentrações de FSH, o que determina concentrações menores do que aqueles requeridos pelos folículos de menor tamanho para continuarem seu crescimento (GINTHER et al., 2000, 2001).

Os fatores principais produzidos pelos folículos selecionados e em crescimento que atuam na supressão da secreção do FSH é o estradiol e a inibina (BLEACH et al., 2001). O estradiol é produzido principalmente pelo maior folículo da onda e os demais folículos contribuem com menos de 10% da produção ovariana do esteróide (MANN et al., 1995). Essa supressão é responsável por uma rápida divergência no tamanho do futuro folículo dominante e dos demais folículos subordinados (KULICK et al., 1999).

Em conjunto, um aumento transitório na circulação de LH próximo ao dia da divergência foi reportado em éguas (GASTAL et al., 1997) e em vacas (KULICK et al., 1999). Um aumento na expressão de receptores para LH nas células da granulosa também tem sido descrito, próxima a essa fase, no futuro folículo dominante em todas as espécies, ocorrendo quando os folículos atingem cerca de 4mm em ovelhas (BAO & GARVERICK, 1998; DRIANCOURT, 2001; BEG et al., 2001).

O desenvolvimento dos receptores de LH nas células da granulosa do futuro folículo dominante pode permitir que o aumento transitório da circulação de LH tenha efeito funcional no processo de seleção (LOPEZ et al., 2004). Sendo assim, o LH é conhecido como estimulador do aumento da concentração de estradiol no fluido folicular, que está envolvido na continuação da supressão de FSH (GINTHER et al., 2000).

A existência de uma dominância folicular em pequenos ruminantes permaneceu controversa por um longo período (DRIANCOURT et al., 1991). Entretanto estudos suportam o conceito de que a dominância é também presente em cabras, especialmente durante a primeira onda e a onda ovulatória (GINTHER & KOT, 1994; DE CASTRO et al., 1999). O número total de pequenos folículos decresce juntamente com o desenvolvimento do maior folículo da primeira onda (MENCHACA et al., 2002) e este padrão folicular é uma das características descritas para o fenômeno de dominância em vacas (ADAMS et al., 1993).

No entanto, a dominância folicular em caprinos é menos absoluta do que em espécies monovulatórias como a vaca, mas evidências sugerem a presença de relações similares, porém com o desenvolvimento de dois folículos potencialmente ovulatórios ao invés de um (GINTHER & KOT, 1994). O conceito de codominância foi



então introduzido para explicar que dois folículos grandes podem ser observados em cada onda, mas estudos específicos sobre esse aspecto até então não haviam sido reportados (RUBIANES & MENCHACA, 2003).

Existe uma correlação direta entre a presença do folículo dominante e a ausência de recrutamento, já que a cauterização do folículo dominante induziu imediatamente o recrutamento de novos folículos (KO et al., 1991).

Durante a dominância folicular, o folículo pré-ovulatório não só continua seu crescimento como também se diferencia funcionalmente para se preparar para ovulação. A secreção de grandes quantidades de estradiol pelo folículo selecionado aparenta ser de suma importância e o distingue dos demais folículos subordinados (DRIANCOURT, 2001).

A síntese folicular de estradiol requer a cooperação de células endócrinas foliculares e as gonadotropinas com as células da teca produzindo andrógenos em resposta ao estímulo do LH e as células da granulosa aromatizando os andrógenos a estradiol em resposta ao FSH (RICHARDS et al., 1987).

Pequenas, mas constantes, elevações de LH circulante são cruciais para o desenvolvimento de folículos ovulatórios. O LH estimula a diferenciação final das camadas celulares da teca, incluindo um aumento na capacidade de secretar andrógenos. A aromatização desses pelas células da granulosa aumenta a produção de estradiol que é crucial para a diferenciação das células da granulosa (RICHARDS et al., 1987)

Folículos dominantes não ovulatórios que se desenvolvem durante a fase luteal, também possuem maior capacidade de produção de andrógenos e estradiol que os demais folículos. Entretanto, se as concentrações de progesterona se mantiverem em concentrações luteais, estes folículos não continuam o aumento na secreção de estradiol. A secreção do estradiol diminui, tanto no plasma quanto no fluído folicular e este decréscimo promove um feedback negativo do ovário, enquanto o folículo dominante não ovulatório começa a regredir, permitindo um aumento no FSH basal que induz o recrutamento de folículos para uma nova onda ovulatória. Por outro lado, caso ocorra regressão luteal durante a fase de dominância, há um declínio na progesterona

plasmática que é seguido de pequenos aumentos nas concentrações basais de LH e aumento na frequência pulsátil de LH (WALTERS & SCHALLENBERGER, 1984), o que permite que o folículo dominante complete seu desenvolvimento até o ponto onde secreta estradiol suficiente para permitir o pico de LH e a ovulação (FORTUNE, 1994) com posterior formação de um corpo lúteo (CL).

#### 2.1.2.1 Formação do corpo lúteo

O CL pode ser considerado uma glândula endócrina transitória que se desenvolve a partir da parede do folículo de Graaf, por um complexo mecanismo que envolve mudanças morfológicas e bioquímicas. As células esteroidogênicas do folículo rompido passam por mudanças estruturais e funcionais conhecidas como luteinização e se transformam em células luteais (SANGHA et al., 2002).

Após a ovulação, o suprimento sanguíneo das células da granulosa aumenta. Essas células crescem e se dividem formando um corpo sólido que alcança seu tamanho máximo e sua completa atividade funcional por volta do sétimo dia após a ovulação. Neste momento, o CL está altamente vascularizado, recebendo aproximadamente 97% do fluxo de sangue ovariano (ROBERTSON, 1977).

A luteinização resulta em uma mudança na secreção de estradiol para  $P_4$  fazendo com que haja aumento nas concentrações desse hormônio e que este permaneça em níveis elevados ( $>1\text{ng/ml}$ ) durante aproximadamente 16 dias (FATET et al., 2011). Após esse dia não houve aumento significativo. EVANS & MAXWELL (1987) relatam que o pico desse hormônio na corrente sanguínea se dá aproximadamente seis dias após a ovulação e a sua concentração permanece alta durante todo período gestacional. ARASHIRO (2008) ao estudar CL de cabras da raça Toggenburg, demonstrou um aumento progressivo nas concentrações de  $P_4$  até o dia nove do ciclo estral, o que acompanhou o aumento progressivo da área de tecido luteal, demonstrando uma correlação positiva entre essas duas variáveis.

Embora em menores quantidades, o CL também é responsável pela secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e hormônios peptídicos como a relaxina, a oxitoxina, a neurofisina-I, a vasopressina e a inibina (SANGHA et al., 2002).

Caso não ocorra a fecundação ou haja falha no processo de implantação do embrião, o CL sofre luteólise e entra em atresia (EVANS e MAXWELL, 1987). No trabalho de ARASHIRO (2008), as cabras não gestantes apresentaram uma queda acentuada na concentração plasmática de  $\text{P}_4$  demonstrando valores inferiores a 1ng/mL 24 horas após o início da luteólise, caracterizando o início do processo de luteólise natural. Essa queda também teve correlação positiva com a área de tecido luteal, entretanto a diminuição da área não foi acentuada como a queda hormonal.

A luteólise ocorre devido a uma série de interações endócrinas envolvendo o útero, ovários e possivelmente a neurohipófise (SILVIA, 1999). Na grande maioria das espécies domésticas a prostaglandina  $\text{F}_{2\alpha}$  ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) é o fator responsável pelo início do processo de luteólise (McCRACKEN et al., 1999). O processo é caracterizado inicialmente por uma diminuição na biossíntese e secreção da  $\text{P}_4$  (luteólise funcional), seguida por uma alteração na estrutura histológica do CL (luteólise morfológica e estrutural), resultando na formação do *corpus albicans*, uma pequena cicatriz composta por tecido conjuntivo denso (McCRACKEN et al., 1999).

### **2.1.3 Perfil hormonal e fatores de crescimento ovarianos**

Durante um ciclo ovulatório, mudanças bioquímicas e estruturais ocorrem nas células da granulosa que são induzidas e moduladas por fatores extragonadaís e intragonadaís. Enquanto os fatores extragonadaís, como o FSH são requeridos para dar suporte ao desenvolvimento folicular, outros fatores intragonadaís podem também atuar para regular mais precisamente esse processo (SCHIDAIFAT, 2001).

Existe um grande número de fatores que têm sido implicados na regulação da função ovariana. Estão incluídos hormônios e fatores de crescimento, como a insulina, o glucagon, a leptina, o hormônio de crescimento (GH), os hormônios tireoidianos, o

IGF (fator de crescimento semelhante à insulina) hepático e suas proteínas de ligação (IGFBP) (WEBB et al., 2004).

Como exemplo, foi demonstrado que tanto o IGF1 quanto a insulina, interagem com o FSH para estimular a produção de estradiol pelas células da granulosa (GUTIERREZ et al., 1997; SPICER et al., 2002).

#### 2.1.3.1 Fator de crescimento semelhante à insulina

O sistema de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é um componente essencial dos mecanismos intra-ovarianos envolvidos na regulação do crescimento folicular e da função do corpo lúteo (ARMSTRONG & WEBB, 1997; ARMSTRONG et al., 1998).

Tanto o IGF1 quanto seus receptores são vastamente expressos no sistema nervoso central, incluindo o hipotálamo (BONDY et al., 1992), e infusões de IGF1 demonstraram estimular a liberação de GnRH e acelerar a puberdade em ratos (HINEY et al., 1991, 1996).

As ações dos IGFs são reguladas por proteínas de ligação de IGF (IGFBP) produzidas localmente (WEBB et al., 2004). Em folículos antrais de até 9mm de diâmetro em vacas, tamanho aproximado no qual são expressos receptores de LH nas células da granulosa, a expressão de mRNA de IGFBP2 e 4 é restrita às células da granulosa e da teca, respectivamente (ARMSTRONG et al., 1998). A concentração de IGFBP2 e, possivelmente, IGFBP4 e 5 são maiores no fluido folicular de folículos antrais de pequeno e médio tamanhos, mas é significativamente reduzida ou indetectável no fluido folicular de folículos grandes e/ou folículos dominantes (ECHTERNKAMP et al., 1994; AUSTIN et al., 2001; NICHOLAS et al., 2002). Assim, a conversão de um folículo subordinado a dominante foi associada ao decréscimo de IGFBP2 (ARMASTRONG et al., 1998; GINTHER et al., 2002; KOJIMA et al., 2003), possivelmente devido a uma ação indireta do FSH na inibição da expressão de IGFBP2 (WEBB et al., 2004). Essa redução, juntamente com o aumento na concentração de estradiol, tem sido associada à seleção de folículo dominante em bovinos

(ARMSTRONG et al., 1998, MIHM et al., 2000). Em ovinos, a infusão de IGF-I diretamente na artéria ovariana aumenta a secreção de estradiol na fase folicular, mostrando que o IGF-I é um potente estimulador da esteroidogênese (SCARAMUZZI et al., 1993).

Em vacas, mesmo nos estágios pré-antrais de desenvolvimento, folículos possuem ambos IGFBP2 e receptores de IGF1 (ARMSTRONG et al., 2002). O IGF1 também demonstrou estimular o crescimento de folículos pré-antrais de bovinos *in vitro* (GUTIERREZ et al., 2000).

Em conjunto com a produção local de IGF1, os níveis circulantes produzidos, principalmente pelo fígado, em resposta ao GH são também aumentados durante o início da puberdade. O IGF1 circulante pode aumentar a resposta de gonadotropinas ao estímulo do GnRH, como foi demonstrado em estudo realizado por SOLDANI et al. (1994), onde a IGF1 potencializou *in vitro* a liberação de LH em resposta à estimulação de GnRH. Sendo assim, tanto IGF circulante, quanto local podem servir como um importante sinal na regulação do eixo reprodutivo.

Através de estudos usando culturas das células da granulosa e da teca isoladas de folículos antrais, concluiu-se que os IGFs interagem de maneira sinérgica com o FSH e LH para regular a proliferação e diferenciação destas células (CAMPBELL et al., 1996; GUTIERREZ et al., 1997).

#### 2.1.3.2 Insulina

A insulina é secretada pelas células  $\beta$  pancreáticas e é reconhecida como um sinal do status energético para o sistema nervoso central (INGVARTSEN & ANDERSON, 2000; SCHWARTZ et al., 2000). Receptores de insulina foram localizados em regiões do cérebro de ratos contendo neurônios de GnRH (VAN HOUTEN et al., 1979) e estudos com cultura *in vitro* realizados por ARIAS et al. (1992) indicaram que a insulina estimula a liberação de GnRH.

Ao nível ovariano os receptores de insulina foram encontrados amplamente distribuídos por todos os compartimentos ovarianos, incluindo as células da granulosa e da teca e estroma (PORETSKY & KALIN, 1987).

A insulina é necessária para a máxima esteroidogênese por parte das células foliculares e luteais (POFF et al., 1998; SPICER & ECHTEMKAMP, 1995). Através de estudos *in vitro*, ficou demonstrado que a insulina estimula diretamente tanto a mitose quanto a produção de esteróides em células da granulosa de bovinos (GUTIERREZ et al., 1997), da teca (STEWART et al., 1995) e células luteais (MAMLUK et al., 1999).

O estrogênio tem demonstrado estimular tanto a expressão de mRNA de insulina quanto sua secreção pelo pâncreas em diversas espécies (MORIMOTO et al., 2001). A correlação das concentrações circulantes de insulina com aumento na produção de estradiol em células da granulosa de pequenos folículos antrais cultivadas *in vitro* foi demonstrada por ARMSTRONG et al. (2002), comprovando uma ação direta dos hormônios metabólicos na função folicular.

Muitos estudos com cultura de células da teca e da granulosa *in vitro* demonstraram esta ação direta de fatores metabólicos (LUCY, 2000; SPICER et al., 2000; ARMSTRONG et al., 2003). Estudos com cultura celular de bovinos demonstraram que as células da granulosa são criticamente dependentes da presença de concentrações fisiológicas de insulina (GUTIERREZ et al., 1997; GLISTER et al., 2004).

Ao utilizarem ratos e ovelhas diabéticas, demonstrou-se que há um requerimento absoluto da insulina para uma normal pulsatilidade de LH e indução do pico desse hormônio (KIRCHICK et al., 1982; BUCHOLTZ et al., 2000).

## 2.2 BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO

### 2.2.1 Indução de estro sincronizado

Em pequenos ruminantes a sincronização do estro é afetada pelo padrão sazonal na maior parte de raças de cabras e ovelhas em regiões temperadas. Nesses animais o estro pode não ter que ser somente sincronizado, mas também induzido durante o período de anestro estacional (WILDEUS, 2000).

A sincronização facilita o manejo dentro de uma propriedade por concentrar as cobrições das fêmeas, sincronizando os partos e lactações. Essa pode ser realizada como protocolo para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) ou mesmo preceder à monta natural.

O princípio básico da indução é o de se obter um folículo que produza gonadotrofinas suficientes para levá-lo à ovulação, ou seja, induzir uma fase folicular, provocando simultaneamente a finalização de uma fase luteal (FREITAS & RUBIANES, 2008).

Existem diferentes estratégias para se induzir e sincronizar o estro em cabras, incluindo o efeito macho (SIMPLICIO et al., 2007), manipulação da duração de luz/dia (CHEMINEAU et al., 1986), utilização de prostaglandina (WHITLEY & JACKSON, 2004), uso de implantes de melatonina (KUMAR & PUROHIT, 2009), e a utilização de progestágenos através de dispositivos intravaginais ou implantes subcutâneos seguidos da administração de gonadotropinas (WILDEUS, 2000, WHITLEY & JACKSON, 2004).

A sincronização do estro com análogos sintéticos da progesterona data da década de 60 (ROBINSON, 1967) e, desde então, pressários vaginais, como esponjas vaginais de poliuretano, foram adotadas como o veículo responsável pelo priming de progesterona que precederia o tratamento hormonal de indução e/ou sincronização do estro de pequenos ruminantes (TRALDI et al., 2007).

O tratamento com progestágenos ou progesterona permite controlar o momento do aparecimento do estro e da ovulação por meio de um mecanismo de bloqueio, feedback negativo sobre as gonadotropinas, seguido por “desbloqueio”, resposta hipofisária após o fim do tratamento (MORAES et al., 2008).

Os progestágenos mais utilizados para sincronização são o acetato de fluorogestona (FGA) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP) ambos utilizados

incorporados a esponjas intravaginais. Esses são efetivos a concentrações mais baixas do que a progesterona natural (WILDEUS, 2000; WHITLEY & JACKSON, 2004). Há ainda dispositivos intravaginais siliconizados que contêm progesterona natural (CIDR-G), além de implantes de silicone impregnados com progestágeno sintético (FREITAS & RUBIANES, 2008).

A estimulação ovariana nos tratamentos de indução e sincronização de estro vem sendo obtida pelo uso de gonadotropina coriônica equina (eCG) ou humana (hCG) ou hormônios peptídeos (GnRH), sendo a eCG a substância utilizada na maioria dos tratamentos. No entanto, a produção de anticorpos anti-eCG após repetidos tratamentos em um mesmo animal pode afetar o efeito do mesmo (MORAES et al., 2008). Pode-se ainda fazer o uso da  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , hormônio responsável pela lise do corpo lúteo, como garantia de luteólise e prevenção de eventuais corpos lúteos persistentes que prolongariam a fase luteal. Normalmente é utilizado seu análogo sintético, o d-cloprostenol (FREITAS & RUBIANES, 2008).

As gonadotropinas e a prostaglandina podem ser administradas 24 a 48 horas antes ou no momento da retirada do dispositivo intravaginal. Protocolos de longa duração dispensam o uso de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (FONSECA, 2006). TRALDI (2006) preconiza que sejam administradas entre 300-700 UI de eCG, entretanto estudo realizado por WILDEUS (2000) demonstrou que dosagens de 450 UI e 600 UI obtiveram melhor fertilidade quando comparadas com doses de 300 UI.

Os protocolos podem variar entre curta (seis dias), média (nove dias) e longa duração (12 a 14 dias). FONSECA et al. (2005), ao compararem protocolos de curta (seis dias), média (nove dias) duração, com esponjas contendo 60 mg de MAP e administrando-se 200 UI de eCG e 22,5µg de cloprostenol 24 horas antes da retirada das mesmas, concluíram que o protocolo curto pode ser empregado sem prejuízo aos parâmetros reprodutivos de intervalo da retirada da esponja ao início do estro e da duração do estro entre grupos, demonstrando que ambos são eficientes na indução do estro. NASCIMENTO (2008), ao estudar protocolos de curta, média e longa duração em cabras da raça Toggenburg obteve taxas de gestação semelhantes entre eles. O mesmo foi encontrado por FONSECA et al. (2009) em cabras da raça Anglo-Nubiana.



Outros estudos corroboram o encontrado, demonstrando não haver diferença entre a duração dos protocolos, mostrando eficácia igual ou mesmo superior (BICUDO & SOUSA, 2003; ATAMAN et al., 2006; DOGAN et al., 2008).

REGUEIRO et al. (1999) testou o uso de esponjas contendo 60 mg de MAP durante 14 dias, com e sem a administração de 500 UI de eCG no dia da retirada da esponja em cabras Saanen, Nubianas e cruzadas e obtiveram melhor prolificidade naquelas sem a administração de eCG (64%) quando comparadas com o outro grupo (41%). Outros protocolos com a utilização de esponjas contendo 60 mg de MAP em cabras foram testados por PIERSON et al. (2003), sendo um associado à gonadotropina e prostaglandina e outro com um tratamento adicional de GnRH 24 horas após a retirada da esponja, tendo sido este último mais eficiente do que o primeiro em induzir o estro em até 74 horas após a retirada da esponja.

Estes regimes hormonais, baseados em progestágenos, gonadotrofina coriônica equina (eCG) e/ou prostaglandinas, foram estabelecidos há mais de quatro décadas e permitem a sincronização de estro e ovulação durante os períodos de anestro e de estação de monta (FATET et al., 2011).

### **2.2.2 Ultrassonografia ovariana**

A ultrassonografia é uma técnica de imagem simples, confiável e não invasiva, sem efeitos colaterais. Entretanto, a aplicação desta técnica na prática veterinária se desenvolveu, inicialmente, para uso limitado em diagnóstico de gestação e algumas condições patológicas uterinas (GRIFFIN & GINTHER, 1992).

Em pequenos ruminantes, a ultrassonografia foi descrita pela primeira vez em 1983, para diagnóstico de gestação em cabras e ovelhas por TAINURIER et al. (1983a,b). Nesta época a técnica era considerada uma ferramenta de elite sendo acessível somente para poucos produtores. Atualmente passou a ser amplamente reconhecida e usada como uma técnica chave para o manejo reprodutivo e para pesquisas. Desde os anos 90 a ultrassonografia tem se tornado a ferramenta de eleição para o estudo das estruturas ovarianas em diferentes espécies de animais domésticos (GRIFFIN & GINTHER, 1992).

A ultrassonografia utiliza ondas de som de alta frequência para produzir imagens de tecidos e órgãos internos. As ondas são produzidas através da vibração de cristais especializados (cristais piezoelétricos) contidos no transdutor. Essas ondas resultam em uma imagem bidimensional (GRIFFIN & GINTHER, 1992).

As características ultrassônicas de um tecido dependem da sua habilidade de refletir as ondas de som. A proporção de ondas refletidas de volta para o transdutor é convertida em corrente elétrica e demonstrada como um eco no monitor do aparelho. Sendo assim, o transdutor atua tanto como o gerador das ondas quanto o receptor dos ecos. Esses ecos são visualizados na tela em uma variação de escala da cor cinza (preto ao branco). Líquidos não refletem as ondas, e por isso são representados no monitor com a cor preta (anecóico), já tecidos densos refletem uma grande proporção das ondas emitidas e são representados pela variação da cor cinza à branca (hiperecóico) de acordo com o grau de densidade (i.e., quanto mais denso, mais branco) (LIGTVOET et al., 1989).

A identificação dos ovários é dependente da experiência do operador. DICKIE et al. (1999) demonstraram uma diferença na acurácia entre operadores, principalmente na detecção do corpo lúteo.

Os ovários aparentam forma elíptica com um contorno ligeiramente hiperecóico de 10 X 15 mm de diâmetro dependendo do estágio reprodutivo. Durante o anestro, esses são pequenos e possuem folículos entre 1 a 5 mm. Devido à presença de fluido no antro, os folículos são identificados como estruturas pretas (anecóicas), com uma leve linha esférica de contorno (GONZALEZ-BULNES et al., 2010). Em fêmeas cíclicas os folículos pré-ovulatórios podem alcançar de 8 a 9 mm em cabras (CUETO et al., 2006).

A acurácia da detecção de folículos tem sido medida em ovelhas e tem se encontrado uma variação entre autores. GONZALEZ-BULNES et al. (1994) demonstraram uma acurácia de 93% ao detectarem folículos de 4 a 5 mm e de 100% para folículos maiores de 6 mm. Já CONTRERAS SOLÍS et al. (2007), ao analisarem os ovários, obtiveram uma acurácia de 73,9% ao considerarem o número total da população folicular, tendo a acurácia maior para folículos maiores de 4 mm (91,7%),

quando comparada com folículos de menores tamanhos (2 a 2,9 mm - 71,7%; 3 a 3,9 mm - 68,4%).

De acordo com GONZALEZ-BULNES et al. (2010), erros na contagem de folículos grandes ocorrem, principalmente, devido a uma subestimação, enquanto que erros na contagem de folículos pequenos se devem a uma superestimação.

## 2.3 NUTRIÇÃO

### 2.3.1 Gordura protegida

As suspensões microbianas no rúmen são capazes de hidrolisar triglicerídeos e fosfolipídios que contêm ácidos graxos poli-insaturados. Gorduras animal e vegetal que contêm ácidos palmitoleico (C16:1), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3) são amplamente metabolizadas, sendo o ácido linoleico o mais abundante em vegetais e derivados vegetais. Os microrganismos no rúmen metabolizam as gorduras hidrolisando-as em seus componentes de ácidos graxos poli-insaturados e glicerol (WILLIAMS, 2001). Os ácidos graxos insaturados liberados têm algumas de suas ligações duplas reduzidas e seus isômeros modificados em um processo chamado biohidrogenação (DOREAU & CHILLIARD, 1997; MATTOS et al., 2000; ROBINSON et al., 2002; SANCHEZ, 2003).

Os ácidos graxos saturados são praticamente inertes no ambiente ruminal (SANTOS, 1998; SANCHEZ, 2003), e grande parte do glicerol é fermentado em ácido propiônico (WILLIAMS, 2001; FIALHO & OLIVEIRA, 2005). As gorduras consideradas inertes têm baixo pKa, o que faz com que elas não sejam totalmente solúveis no rúmen em um pH normal (SANTOS, 1998). Suplementos lipídicos parcialmente inertes à biohidrogenação, tais como sais de cálcio provenientes de ácidos graxos de cadeias longas (CaLCFA), têm sido desenvolvidos para aumentar a quantidade de ácidos graxos insaturados que chegam ao duodeno para serem absorvidos e incorporados ao tecido adiposo dos animais e ao leite (MATTOS et al., 2000; SANCHEZ, 2003).

A gordura protegida (Megalac-E®) é capaz de suprir todas as necessidades energéticas não atendidas pelo restante da dieta, tendo, portanto, influência positiva na condição corporal do animal e na produção de leite (GHOREISHI et al., 2007). A utilização destes ácidos graxos essenciais pode, também, servir como ferramenta para o aumento da eficiência reprodutiva de ruminantes (GRESSLER & SOUZA, 2009). A dieta lipídica tem mostrado influência no status lipídico folicular, no microambiente oócito/ embrião *in vivo* (STURMEY et al., 2009), e na taxa de fertilidade (GHOREISHI et al., 2007).

Foi evidenciado por STAPLES et al. (1998) e SANTOS et al. (2008) que vacas alimentadas com Megalac® tiveram melhores índices de fertilidade do que vacas alimentadas com outras gorduras ou outras fontes de energia, entretanto, TITI & AWAD (2007) não obtiveram melhora no desempenho reprodutivo de cabras suplementadas com gordura, onde foi observado somente um aumento no peso dos cabritos ao nascimento. Em ovelhas bem nutridas, AFONSO et al. (2008) não verificaram melhora nos índices reprodutivos após a suplementação com gordura protegida no período pós-parto.

A administração de gordura para fêmeas bovinas, semelhante ao que ocorre em monogástricos, estimula a síntese e o acúmulo de colesterol e ésteres de colesterol nos tecidos e fluidos corporais, inclusive nos ovários (WILLIAMS, 2001; THOMAS E WILLIAMS, 1996; NOGUEIRA, 2008).

A utilização de gordura em dietas de vacas pode melhorar o desempenho reprodutivo, independentemente de sua contribuição energética, pois os ácidos graxos podem modificar algumas vias específicas e influenciar o metabolismo de alguns hormônios (esteroides e eicosanóides) que modulam os processos metabólicos nos ovários e no útero, além de exercer efeitos diretos na transcrição de genes que codificam proteínas essenciais à reprodução (DIAS, et al., 2009). Os mecanismos pelos quais a suplementação melhora o desempenho reprodutivo parecem envolver, principalmente, aumentos na capacidade funcional do ovário, na concentração de progesterona circulante e na vida útil do corpo lúteo (CL) (WILLIAMS, 1990; RYAN et

al., 1995; BEAM & BUTLER, 1999; MATTOS ET AL., 2000; ARMSTRONG et al., 2001; BELLOWS et al., 2001; BOKEN et al., 2005).

### **2.3.2 Nutrição e reprodução**

Os efeitos da nutrição sobre a reprodução são bem conhecidos. Ela afeta todos os aspectos da cadeia de eventos reprodutivos, desde a gametogênese até a puberdade, tanto em machos quanto em fêmeas (SCARAMUZZI et al., 2006) e é um dos mais importantes fatores que afeta a taxa de ovulação em animais domésticos. Ela influencia a fertilidade em ruminantes diretamente através do fornecimento de nutrientes específicos que são necessários para os processos de desenvolvimento do oócito, dos espermatozoides, da ovulação, da fertilização, da sobrevivência embrionária e do estabelecimento da gestação e da lactação. Indiretamente, a influência se faz pela alteração das concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos (ROBINSON et al., 2006).

Tradicionalmente, a recomendação zootécnica é melhorar a alimentação em termos de quantidade e/ou qualidade das ovelhas mais ou menos dois meses antes do período de procriação, na tentativa de melhorar a condição corporal da ovelha e assim obter maiores taxas de ovulação e fecundidade. Nos trópicos, onde não há disponibilidade de pastos de alta qualidade, as ovelhas precisam receber suplementos nutricionais contendo componentes protéicos ou de energéticos para melhorar esses parâmetros. Contudo, este método consome muito tempo e, em alguns casos, o custo poderia ser impraticável (GUTIERREZ et al., 2011).

Os tratamentos nutricionais promovem efeito sobre a reprodução, pois afetam particularmente a fase gonadotropina dependente. Os folículos nesta fase dependem de FSH para o seu crescimento e desenvolvimento. Diversos pesquisadores acreditam que o efeito da nutrição sobre o eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal deva-se a alterações no sistema *feedback* hormonal, onde há alteração na sensibilidade dos folículos à ação do FSH, e não devido a alterações nas concentrações circulantes de

FSH (RADFORD et al., 1980). Outros autores defendem que a suplementação energética provoca um aumento nestas concentrações de FSH antes do estro (BRIEN et al, 1976; KNIGHT et al., 1981).

A suplementação alimentar energética pode aumentar bastante a taxa de ovulação sem afetar a condição corporal ou o peso do animal. Uma suplementação de apenas 4 a 9 dias pode aumentar a taxa de ovulação (STEWART & OLDHAM, 1986; LETELIER et al., 2008).

Estudos recentes diminuíram o tempo de duração do *flushing* estabelecendo um intervalo de suplementação entre nove e quatro horas por dia antes da cobertura. Contudo, a duração mínima do *flushing* necessário para aumentar a taxa de ovulação ainda deve ser determinada. A resposta a esta questão pode depender do tempo que o folículo precisa para crescer e amadurecer até atingir o estado ovulatório (GUTIERREZ et al., 2011).

SMITH & STEWART (1990) classificaram o efeito da nutrição sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas de pequenos ruminantes em: *efeito estático*, onde o peso corporal (PC) e o escore da condição corporal (ECC) são mantidos altos por pelo menos três semanas antes do estro; *efeito dinâmico*, onde há mudanças no PC ou ECC, durante as três semanas que precedem o estro, que afetam a reprodução; e o *efeito imediato*, quando há mudanças no suprimento de nutrientes 4-6 dias antes do estro estudado sem haver mudanças no PC ou ECC (Figura 1).

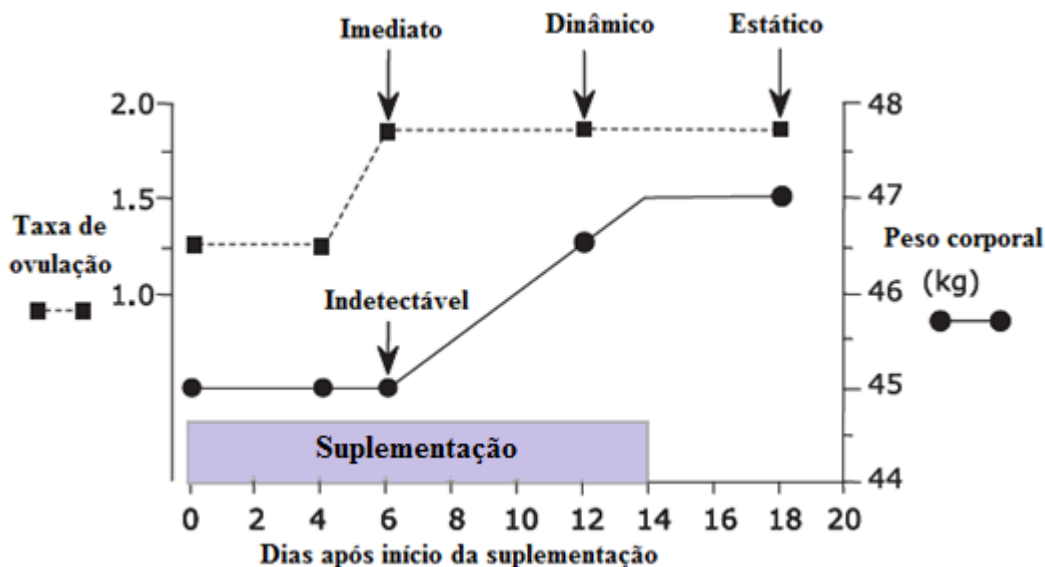


Figura 2 As influências dos efeitos imediato, dinâmico e estático da nutrição sobre a taxa de ovulação de ovelhas. Fonte: Adaptado de SCARAMUZZI et al (2006).

Ao rever os efeitos da nutrição sobre a fertilidade de pequenos ruminantes, LANDAU & MOLLE (1997) concluíram que, para algumas raças de ovelhas mediterrâneas, um curto período de suplementação alimentar antes da cobertura, influencia positivamente a ovulação, corroborando com o observado por SMITH & STEWART (1990), sendo classificado como efeito imediato. VENTURI (2011) ao fornecer suplementação energética à ovelhas por um curto período de tempo, embora não tenha encontrado efeito sobre a taxa de ovulação, observou que não houve influência do maior aporte energético da dieta sobre o peso corporal ou escore de condição corporal desses animais.

RHIND et al. (1986, 1989) estudando o efeito estático da nutrição sobre a reprodução, observaram que ovelhas mais pesadas e apresentando maior condição corporal, apresentaram maior taxa de ovulação e maior número de folículos maiores nos ovários quando comparadas a ovelhas de menor peso e condição corporal. Desta forma, ovelhas mais pesadas apresentaram uma maior taxa de recrutamento e uma menor taxa de atresia de folículos.

Em um estudo realizado em ovelhas da raça Ideal foi observado que animais com alta condição corporal ( $4,0 \pm 0,1$ ) obtiveram maior taxa de ovulação que ovelhas com baixa condição corporal ( $1,9 \pm 0,1$ ), o que estaria associado à alta concentração de FSH e à baixa concentração de estradiol durante a fase folicular do ciclo estral. Ovelhas suplementadas com dieta para atender duas vezes a exigência da manutenção entre os dias 8 e 14 do ciclo estral tiveram aumento na taxa de ovulação quando apresentavam condição corporal de média a alta (VIÑALES, 2003).

#### 2.3.2.1 Influências nutricionais sobre o desenvolvimento folicular

Existem grandes evidências do efeito da nutrição sobre o desenvolvimento folicular. Estudos demonstram que o aumento no nível de energia da dieta influencia a dinâmica ovariana através do aumento nas concentrações de substâncias metabólicas e/ou por estimulação da secreção de gonadotropinas em ovelhas (DOWNING et al., 1995a).

Para ZABULI et al. (2010), os primeiros quatro dias de suplementação nutricional influenciam basicamente a emergência de folículos ovulatórios por modular os níveis das concentrações intra-foliculares de insulina/glicose ao invés de uma ação endócrina.

A suplementação energética por tempo prolongado é consistentemente associada a um aumento na taxa de ovulação (NOTTLE et al., 1990; VENTER & GREYLING, 1994; MOLLE et al., 1995, 1997). Entretanto, um tempo relativamente curto (aproximadamente sete dias ou menos) de suplementação durante a fase luteal para aumentar a taxa de ovulação tem somente sido descrita somente em poucos estudos em ovelhas (STEWART & OLDHAM, 1986; NOTTLE et al., 1990). Estudos de HARUNA et al. (2009) com suplementação energética constante por período de sete dias se demonstrou falha em aumentar a taxa de ovulação de cabras, assim como outros trabalhos realizados em ovelhas (VIÑALES, 2003; VIÑALES et al., 2005, VENTURI, 2011).

GUTIERREZ et al. (2011) mostraram que um *flushing* ultracurto (USF) em ovelhas a partir da administração única de uma substância glicogênica no momento da



luteólise induzida por prostaglandina aumentou a taxa de ovulação (controle:  $1,6 \pm 0,06$  x USF:  $2,08 \pm 0,06$ ) ou progestina (controle:  $1,64 \pm 0,07$  x USF:  $2,41 \pm 0,09$ ). Este aumento foi associado à ocorrência da elevação da glicose e da insulina por 12 horas após o USF. Contudo, o diâmetro dos três maiores folículos não mudou entre o dia do *flushing* e o dia do estro e não apresentou diferenças entre o controle e USF.

Para DOWNING & SCARAMUZZI (1991), a suplementação no período médio do ciclo estral exerce alterações quantitativas em folículos pequenos e qualitativas em folículos dominantes de pequenos ruminantes. Entretanto, em recente estudo, ZABULI et al. (2010) demonstraram que a suplementação nutricional intermitente por um curto período de tempo se mostrou eficaz em aumentar o número de folículos dominantes no dia anterior à ovulação e à taxa ovulatória, demonstrando uma alteração quantitativa também em folículos dominantes.

Corroborando com DOWNING & SCARAMUZZI (1991), RHIND & McNEILLY (1998) encontraram uma maior população de folículos pequenos em ovelhas submetidas a níveis altos de energia na dieta quando comparado a ovelhas com um nível de energia baixo na alimentação. O mesmo foi relatado por VIÑALES et al. (2005) que notaram aumento no número de folículos de 2 a 3mm logo ao início da suplementação.

Os estudos do desenvolvimento folicular em pequenos ruminantes mostraram que a fase de seleção da onda folicular dura apenas três ou quatro dias. Desta forma, se os folículos ovulatórios tiverem de ser escolhidos entre o grupo de folículos crescentes, a suplementação energética pode não precisar durar mais do que o tempo de uma onda folicular (GUTIERREZ et al., 2011). Em pequenos ruminantes, a onda folicular não dura mais que seis a sete dias e o folículo ovulatório é selecionado apenas poucos dias antes da ovulação (RUBIANES, 2000; SEEKALLU et al., 2010).

Adicionalmente, parece que nessas espécies um folículo ovulatório poderia crescer e desenvolver-se para atingir a capacidade ovulatória dentro de curto período de tempo. Ovelhas e cabras parecem ter folículos preparados para atingir o tamanho ovulatório em qualquer tempo do ciclo estral, uma vez que quando uma fase folicular é induzida por administração de prostaglandina ou pela retirada de um tratamento de

progestina, a maioria das ovelhas apresentam estro e ovulação dentro de 60 a 80 horas, respectivamente (GUTIERREZ et al., 2011).

Apesar da divergência entre autores a respeito do intervalo de tempo necessário para que a suplementação energética exerça efeito estimulatório sobre os ovários, principalmente sobre a taxa de ovulação, autores concordam que existe um período crítico no qual essa suplementação de curta duração deva ser implementada. Esta deve ser realizada entre os dias 8 e 4 antes da ovulação, ou seja, durante os dias 10-14 do ciclo estral de ovelhas (GHERARDI & LINDSAY, 1982; OLDHAM & LINDSAY, 1984; NOTTLE ET AL., 1985; STEWART & OLDHAM, 1986; TELENİ ET AL., 1989B; NOTTLE ET AL., 1990; PARR ET AL., 1992) quando, segundo VIÑALES (2003), é o momento que corresponde à emergência da onda ovulatória (Figura 2).

Para GUTIERREZ et al. (2011), o momento preciso para o estímulo energético parece ser o tempo em que a frequência de pulso de LH aumenta após a queda das concentrações de progesterona, ou seja, no início da luteólise. Contudo, a intensidade e a duração do estímulo energético continuam indefinidas. Os folículos ovulatórios devem executar a ovulação pouco depois do declínio da progesterona se tiverem de obter a competência ovulatória. Consequentemente, os autores concluíram, por hipótese, que a janela de tempo onde o folículo é selecionado para ovulação ocorre dentro das primeiras 12 horas após o início da luteólise e que é neste momento que o “flushing” ultra-curto, utilizado por esses autores pela administração de glicerol ou propilenoglicol, surtiria efeito sobre a taxa de ovulação.

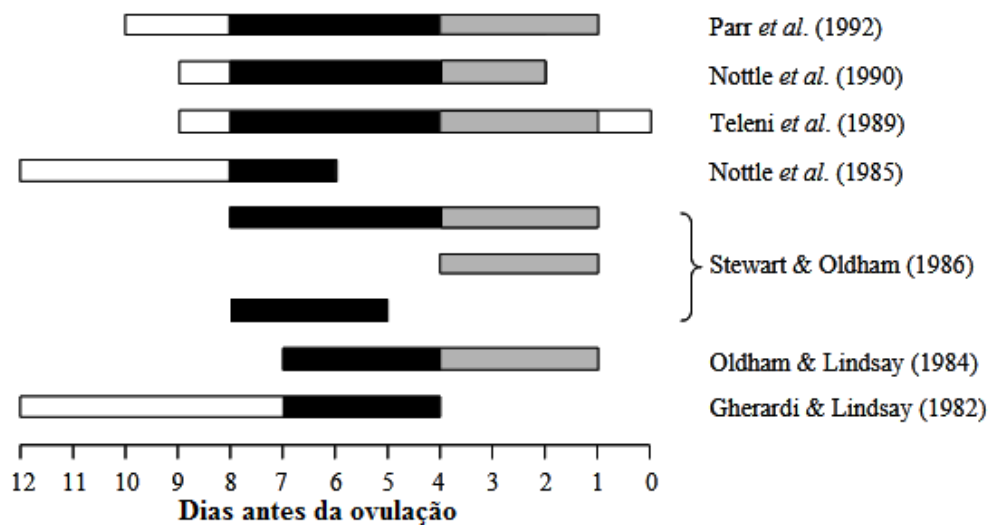


Figura 2 Representação esquemática da duração de diferentes tratamentos de suplementação energética, aplicados em diferentes estudos. O comprimento da barra representa a duração do tratamento como um todo. Preenchimento em preto indica o tempo em que a suplementação energética demonstrou efeito positivo e em cinza, quando demonstrou efeito negativo ou nenhum efeito. Fonte: Adaptado de VIÑOLES (2003).

A dieta também tem sido positivamente correlacionada com a taxa de crescimento e tamanho do folículo ovulatório (MACKEY *et al.*, 1999; BOSSIS *et al.*, 2000). Em ovelhas, a suplementação energética por curto período de tempo demonstrou exercer influências sobre o tamanho do folículo ovulatório (ROBINSON *et al.*, 2002; VIÑOLES *et al.*, 2009). Entretanto, VENTURI (2011), ao suplementar ovelhas com 20% da energia de manutenção, não obteve diferença no tamanho do folículo ovulatório.

Estudo realizado por MURPHY *et al.* (1992) demonstrou que vacas com uma dieta com baixo valor energético tiveram folículos dominantes de tamanho reduzido e persistência dos mesmos quando comparadas com vacas sob dieta de alto valor energético.

Em cabras cíclicas, a suplementação energética por curto período de tempo (sete dias) demonstrou-se eficiente em estimular a secreção de LH (detectado a partir do quarto dia de suplementação) e FSH, como descrito por HARUNA *et al.* (2009).

Entretanto, neste estudo, a suplementação não foi suficiente para estimular mudanças na atividade ovariana.

Fatores extra-ovarianos, como hormônios metabólicos e fatores de crescimento produzidos localmente, estão envolvidos na mediação das mudanças induzidas pela nutrição na dinâmica folicular e na qualidade do oócito (WEBB et al., 2004).

#### *2.3.2.1.1 Insulina*

Um grande número de estudos vem demonstrando a importância da insulina como sinal mediador dos efeitos das mudanças da ingestão de nutrientes na dinâmica folicular em vacas. As concentrações circulantes de insulina exibem uma variação diurna, mas também se modificam durante o ciclo estral com significativo aumento nas concentrações durante o período pré-ovulatório (McCANN & HANSEL, 1986; ARMSTRONG et al., 2001).

Os tratamentos dietéticos que aumentam a liberação de gonadotropinas em ovelhas foram associados a um aumento nas concentrações de insulina circulantes e no fluido cérebro-espinhal (MILLER et al., 1998).

A suplementação de diferentes tipos de ácidos graxos na dieta tem demonstrado aumentar os níveis séricos de insulina em ruminantes. Esse hormônio exerce uma ação direta sobre as células da membrana granulosa, ação que pode ser requerida para um ótimo potencial esteroidogênico (THOMAS et al., 1997).

Especula-se que o aumento nas concentrações de insulina se deva a uma maior concentração de ácidos oleico e linoleico, por esses ácidos graxos aumentarem a produção de propionato no rúmen (CHALUPA et al., 1986).

ESPINOZE et al (2008) ao suplementarem a dieta de ovelhas com gordura bovina obtiveram maiores concentrações séricas de insulina do que em ovelhas não suplementadas.

TELENI et al. (1989), ao realizarem suplementação energética em ovelhas por um período de oito dias obtiveram aumento nas concentrações circulantes de insulina, tendo seu pico ocorrido ao terceiro dia de suplementação e decrescido dias após.

HARUNA et al. (2009), ao realizarem o mesmo estudo com cabras, obtiveram aumento abrupto das concentrações de insulina. Entretanto, essas concentrações caíram a partir do segundo dia no decorrer da suplementação.

As concentrações de insulina aumentam depois de um curto período de suplementação e seus efeitos atuam diretamente sobre as gonadotropinas, junto aos folículos (MONGET & MARTIN, 1997; PORETSKY et al. 1999).

Ao realizarem infusão intravenosa de glicose em ovelhas por cinco dias, DOWNING et al. (1995b) também obtiveram um aumento na concentração de insulina, o que acarretou em aumento da taxa de ovulação. Os autores concluíram que a insulina estava envolvida na mediação das respostas ovulatórias ao estímulo nutricional, diretamente ou através da estimulação da captação de glicose mediada pela insulina.

Entretanto, o efeito direto da insulina sobre a taxa ovulatória é contraditório. Estudos com infusão diária de insulina durante a fase luteal do ciclo estral de ovelhas, realizados por HINCH & ROELOFS (1986), demonstraram resultados positivos, enquanto estudos realizados por LEURY et al. (1990) não demonstraram resultado em animais não suplementados.

Apesar do aumento nas concentrações de insulina ser uma resposta endócrina comum a uma grande variedade de tratamentos nutricionais (DOWNING & SCARAMUZZI, 1991), a administração de insulina em ovelhas não tem surtido efeito sobre a taxa de ovulação, provavelmente devido a uma consequente redução das concentrações de glicose (LEURY et al., 1990; DOWNING & SCARAMUZZI, 1997)

#### *2.3.2.1.2 IGF1*

Trabalhos têm mostrado que o fornecimento de dietas ricas em ácidos graxos de cadeia longa aumenta a gliconeogênese hepática devido ao aumento na secreção de propionato no rúmen (SELNER & SCHULTZ, 1980; CHALUPA et al., 1986; KEELE et al., 1989). Esta maior gliconeogênese tem sido associada a aumentos nas

concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, que são conhecidas por influenciar a população de folículos ovarianos (THOMAS & WILLIAMS, 1996).

WILLIAMS (2001) demonstrou também que a suplementação de gordura estimula o aumento das concentrações de hormônio do crescimento (GH) no soro de bovinos de corte, ocorrendo simultaneamente a um maior acúmulo de IGF-I no fluido folicular. Receptores de hormônios do crescimento estão presentes nos folículos de ovários bovinos, sendo mais abundante no CL (LUCY et al., 1993).

Estudos têm demonstrado mudanças nas concentrações circulantes dos componentes do sistema de IGF1 induzidas pela dieta (McGUIRE et al., 1992; MONGET & MARTIN, 1997) com a concentração circulante de IGF1 sendo correlacionada positivamente com o nível energético da alimentação (BOSSIS et al., 2000; ARMSTRONG et al., 2001; RAUSCH et al., 2002).

É suposto que o aumento na energia da dieta, diminua a concentração de mRNA de IGFBP2 e 4 em pequenos folículos, aumentando assim a biodisponibilidade intrafolicular de IGF. Este fato pode aumentar a sensibilidade ou a resposta de folículos ao FSH e é um dos mecanismos pelo qual a nutrição pode afetar diretamente o recrutamento de folículos. Entretanto, esta biodisponibilidade também possui efeitos negativos sobre a qualidade do oócito. Sendo assim, dietas que são ótimas para o crescimento folicular podem não necessariamente ser ótimas para maturação oocitária (ARMSTRONG et al., 2003).

VIÑALES (2003) não encontrou diferença nas concentrações sistêmicas de IGF1 entre ovelhas suplementadas e não suplementadas e defende que a concentração circulante de IGF1 não é bom indicador da biodisponibilidade deste fator para o folículo. VIÑALES et al. (2005), ao comparar um grupo controle com grupo suplementado com o dobro da energia do grupo controle, continuaram sem encontrar diferenças entre os grupos quanto ao padrão da concentração circulante de IGF1.

#### *2.3.2.1.3 Progesterona*

O desenvolvimento de estratégias, tais como a adição de gordura às dietas de vacas de leite e de corte para incrementar lipoproteínas ao tecido ovariano, pode aumentar a produção de progesterona e melhorar os índices de concepção (GRUMMER & CARROLL, 1991; BRITT et al., 1996; LAMMOGLIA et al., 2000).

Alguns estudos (GRUMMER & CARROLL, 1988; ARMSTRONG et al., 2002; MOALLEM et al., 2007) mostram que o colesterol é um precursor para a síntese luteínica de progesterona em muitas espécies, e que dietas lipídicas poderiam alterar a esteroidogênese ovariana. Essas dietas alterariam o nível do principal substrato, aumentando o nível de colesterol no plasma e a liberação para o tecido ovariano, aumentando a concentração de colesterol no fluido folicular e no corpo lúteo (GRUMMER & CARROLL, 1991; STAPLES et al., 1998).

MANCIO et al. (1999) observaram, em novilhas que receberam suplementação lipídica, maiores concentrações de progesterona no soro quando comparados aos do grupo-controle. Além disso, novilhas suplementadas que receberam tratamento com gonadotrofina coriônica humana (hCG) apresentaram maior concentração de progesterona do que as que não receberam, indicando que a ação luteotrófica do hormônio possivelmente aumentou a absorção de lipoproteínas e a esteroidogênese pelo tecido luteínico.

HAWKINS et al. (1995) sugeriram que os aumentos nas concentrações plasmáticas de progesterona em vacas alimentadas com gordura não são devido ao aumento da sua síntese, mas sim devido a uma menor taxa de sua metabolização.. Esta explicação poderia ser aplicada aos resultados encontrados por LAMMOGLIA et al. (1997), que, trabalhando com vacas Brahman, encontraram maiores níveis de progesterona no plasma, sem efeitos sobre o número ou o tamanho dos corpos lúteos. Resultados semelhantes foram encontrados por HIGHTSHOE et al. (1991), que observaram que a suplementação de gordura para vacas durante o pós-parto aumentou a concentração sérica de progesterona após a primeira ovulação.

Entretanto, ficou demonstrado que a ingestão de alimentos, em ovelhas, pode influenciar as concentrações de P4, com uma significativa correlação negativa entre a quantidade ingerida e a concentração de P4 (RHIND et al., 1989, McEVOY et al.,

1995). De acordo com PARR et al. (1993), este efeito sobre as concentrações circulantes de P4 se deve ao aumento na taxa de catabolismo do hormônio na circulação hepática quando em altos níveis de energia na alimentação. A P4 por sua vez, através do seu efeito de “feedback” negativo, pode afetar a frequência dos pulsos de LH e também a maturação do oócito e no desenvolvimento embrionário (LEESE & BARTON, 1984, McEVOY et al., 1995).

#### *2.3.2.1.4 Glicose*

O metabolismo da glicose está intimamente envolvido com o funcionamento normal das atividades pituitárias-ovarianas em ruminantes (McCLURE et al., 1979). Para RABIEE et al. (1997), a glicose é o maior condutor de energia para o ovário.

De acordo com BOLAND et al. (2001), as alterações na taxa de ovulação podem estar relacionadas à taxa de glicose que entra nas células do animal submetido a um plano nutricional elevado. A suplementação energética de animais tem demonstrado elevar a taxa de ovulação de ovelhas, supostamente pela captação de glicose para as células mediada pela insulina (DOWNING et al., 1995a). SCARAMUZI et al. (2006) sugeriram que a captação da glicose pelas células foliculares, através deste mecanismo, pode ser crítico para o crescimento de folículos e para a prevenção da atresia, desta forma aumentando o “pool” de folículos ovulatórios. Sendo assim, GUTIERREZ et al. (1997) sugeriu que uma curta suplementação energética encontra-se diretamente envolvida no recrutamento de folículos e também no seu crescimento. Entretanto, este efeito pode ser de curta duração quando o nível dietético é alterado.

Similarmente, aumento na taxa de ovulação foi relatado quando da infusão direta de glicose na veia jugular (DOWNING et al., 1995b) ou pela infusão da mesma no abomaso (LANDAU et al., 1995).

WENTZEL (1986) encontrou aumento de 60% na concentração de glicose até 48 horas após o início da suplementação alimentar. HARUNA et al. (2009), ao realizarem suplementação energética em cabras, também obtiveram aumento abrupto das concentrações de glicose. Entretanto essas concentrações caíram a partir do



segundo dia no decorrer da suplementação. O mesmo já havia sido relatado por VIÑOLES et al. (2005) em ovelhas, ao realizarem suplementação por um período de sete dias, e também por VENTER & GREYLING (1994), que encontraram aumento na concentração plasmática de glicose até 24 horas após o início da suplementação.

A administração de um análogo antimetabólico da glicose que inibe competitivamente a oxidação intracelular de glicose rapidamente suprime a pulsatilidade da secreção de LH em ovelhas (OHKURA et al., 2000). Quando as concentrações sanguíneas de glicose estão diminuídas pela administração intravenosa de insulina, os pulsos de LH também são inibidos em ovelhas (CLARKE et al., 1990). Já o aumento na frequência do pulso de LH foi associado ao aumento nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina após suplementação energética por ZABULI et al. (2009) e HARUNA et al. (2009).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi conduzido de acordo com as normas do Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (UFF) (Anexo 1).

#### **3.1 LOCALIZAÇÃO**

O experimento foi realizado no Capril Água Limpa, localizado no município de Piau, região da Zona da Mata do Estado de Minas Gérias (21° 35' S, 43° 15' W, 435 metros de altitude), durante o mês de Fevereiro de 2010. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região onde foi conduzido o estudo é do tipo Cwa, caracterizado por invernos secos e verões chuvosos, temperatura média anual entre 18,0°C a 23,0°C e precipitação pluviométrica anual de 1.581mm<sup>3</sup>.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multidisciplinar pertencente à Fazenda Escola da Faculdade de Veterinária da UFF, localizada no município de Cachoeiras de Macacu, RJ, e no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual de São Paulo (Unesp), Botucatu, SP.

#### **3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS**

##### **3.2.1 Fêmeas**

Foram selecionadas 33 cabras da raça Toggenburg, nulíparas, sadias e em idade reprodutiva. As fêmeas foram divididas em três grupos experimentais. Esta divisão foi realizada de maneira a homogeneizar o peso corporal e o escore da condição corporal nos grupos experimentais. O escore da condição corporal foi avaliado por meio da palpação das regiões dorso-lombar e esternal e foram selecionadas cabras com condição acima de 2,40. Este método consiste em uma

escala de 1 (muito magra) a 5 (obesa), conforme descrição de SUITER (1994) (Anexo 2).

Foram realizadas três pesagens dos animais. A primeira antes do início da adaptação à dieta; a segunda antes do início da suplementação e a terceira, ao término da suplementação. Estas pesagens tinham como objetivo avaliar a adaptação dos animais à dieta e também o desempenho dos mesmos.

### **3.2.2 Machos**

Foram utilizados sete machos caprinos da raça Toggenburg, pertencentes à propriedade, para detecção do estro e para a realização da monta natural.

## **3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS**

Os animais foram mantidos em baias coletivas ao longo de todo experimento. Estas baias eram suspensas, com chão ripado e cochos para alimentação e bebedouros, com água sempre à disposição.

A divisão na baia foi feita de acordo com o grupo experimental e o peso dos animais, evitando a competição entre eles. O período de suplementação de estudo foi de 28 dias, sendo os primeiros 22 dias correspondentes à adaptação dos animais à dieta de manutenção e os últimos seis dias correspondentes ao período de suplementação de gordura protegida de acordo com o grupo experimental e ao tratamento hormonal de indução de estro sincronizado.

Os grupos experimentais foram agrupados de acordo com o manejo nutricional descrito a seguir: C - animais que receberam dieta de manutenção; C+1% - animais que receberam dieta com aumento de 1% de gordura protegida; C+4% - animais que receberam dieta com aumento de 4% de gordura protegida.

As dietas foram calculadas para atender aos requisitos de energia líquida (EL) e proteína bruta (PB), conforme as categorias manutenção citadas por Ribeiro (1997).

Tabela 1 Exigências nutricionais

	<b>Cabras</b>	<b>Cabritas</b>	
Peso Vivo (Kg)	33	51	
Ingestão de Matéria Seca (Kg)	0,9	1,2	
	<b>EL (Mcal)</b>	<b>PB (g)</b>	<b>IMS (kg/dia)</b>
Mantença - cabra 30 kg	0,70	51	0,8
Mantença - cabra 40 kg	0,86	63	1,0
Mantença - cabra 50 kg	1,02	75	1,2
Mantença - cabra 60 kg	1,16	86	1,3

Na dieta foi utilizado capim Napier, picado verde diretamente no cocho, como fonte de forragem e no concentrado foram utilizados como ingredientes fubá de milho, farelo de soja, farelo de sorgo, sal mineral e gordura protegida (Megalac-E<sup>®</sup>, QGN, Brasil). Para a determinação das dietas, foi utilizada a tabela proposta por Ribeiro (1997) (Tabela 2)

Tabela 2 Composição bromatológica dos ingredientes utilizados na confecção da dieta

	Matéria Seca (%)	Proteína Bruta (%)	Fibra Neutro (%)	Detergente	Energia Líquida (Mcal)	Extarto Etéreo (%)
Fubá de milho	88	9	9		1,96	3,7
Farelo de soja	89	40	12		1,94	1,5
Farelo de sorgo	87	10	18		1,18	3,4
Capim Napier	27	8	70		1,20	2,5
Megalac <sup>®</sup>	95	-	-		89,5	-

Fonte: Ribeiro, (1997)

A partir da determinação das dietas (Tabela 1), os ingredientes que compuseram o concentrado foram pesados e misturados em misturador próprio para tal. A dieta foi ofertada aos animais quatro vezes ao dia, divididas em frações iguais, calculadas conforme demonstrado na tabela 3.

Tabela 3 Formulação da ração ofertada a cabras Toggenburg submetidas à diferentes níveis de inclusão de gordura protegida na dieta durante protocolo curto de indução de estro sincronizado

Concentrado		C	C+1%	C+4%
Fubá de Milho	kg	30	37	39
Farelo de Soja	kg	20	20	20
Farelo de Sorgo	kg	48	40	35
Sal Mineral	kg	2	2	2
Megalac <sup>®</sup>	kg	0	1	4
Total	kg	100	100	100

Na tabela 4 são apresentadas as quantidades de concentrado e forragem ofertados aos animais durante o período experimental.

Tabela 4 Quantidade de dieta ofertada diariamente a cabras Toggenburg submetidas à diferentes níveis de gordura protegida na dieta durante protocolo curto de indução de estro sincronizado

	Concentrado/animal (kg/dia)	Capim/animal (kg/dia)
C	0,5	0,5
C+1%	0,5	0,5
C+4%	0,5	0,5

### 3.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO

Para a indução de estro sincronizado foram inseridos dispositivos intravaginais contendo 60mg de medroxiprogesterona (Progespon<sup>®</sup> – Tecnopec, São Paulo, SP, Brasil), com o auxílio de um aplicador, após prévia limpeza das regiões vulvar e perivulvar. Estes permaneceram por um período de seis dias. No dia em que se antecedeu a retirada da esponja, foram aplicados por via intra-muscular, na região latero-vulvar,

200 UI de eCG (Novormon<sup>®</sup> - Schering Plough, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e 0,4mL de d-Cloprostenol (Veteglan<sup>®</sup> - Calier, Barcelona, Espanha).

### 3.5 AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR E OVULATÓRIA

Os ovários foram avaliados através de ultrassonografia utilizando-se aparelho portátil da marca Águila PRO<sup>®</sup> da Linha Veterinária (Águila Vet Pie Medical), a ele acoplado um transdutor linear de 6/8 MHz, adaptado para uso transretal em pequenos ruminantes, sendo utilizada a frequência de 8 MHz. As avaliações ultrassonográficas foram iniciadas no dia da inserção do dispositivo intravaginal e repetidas uma vez ao dia até a retirada dos mesmos. A partir da retirada dos implantes até a confirmação da ovulação, foram realizadas avaliações duas vezes ao dia.

Para a avaliação, as cabras foram contidas em um tronco próprio e em seguida, as fezes retiradas manualmente da ampola retal. Com o auxílio de uma seringa de 60mL, foram depositados 10mL de gel (Carbogel ULT<sup>®</sup>, Carbogel, São Paulo, SP, Brasil).

Após a aplicação de gel, o transdutor foi introduzido no reto do animal até a visualização da bexiga, ponto de referência para avaliações ultrassonográficas. Tendo a bexiga sido visualizada, o transdutor foi movimentado para o lado direito e esquerdo, para observação dos ovários. Quando esses foram observados a imagem foi armazenada para o mapeamento e mensuração, em milímetros, dos folículos. A ovulação foi tida como ocorrida quando da não observação do folículo de diâmetro máximo (folículo ovulatório) das avaliações anteriores. Após essa não observação, mais uma avaliação, de caráter confirmatório, foi realizada. Esses dados foram anotados em uma ficha de dinâmica folicular, elaborada para tal (Anexo 3).

Os folículos foram classificados de acordo com o seu tamanho em quatro classes: Fol 1 - folículos menores ou iguais a 3,9mm; Fol 2 – folículos de 4 a 4,9mm; Fol 3 – folículos de 5 a 5,9mm; Fol 4 – folículos maiores ou iguais a 6mm.

### 3.6 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL E MONTA CONTROLADA

Após a retirada dos dispositivos intravaginais, as cabras foram rufiadas duas vezes ao dia, pela manhã e a tarde. Para tal, foram utilizados machos previamente avaliados. O início do cio foi considerado quando o animal aceitou pela primeira vez a monta. A partir deste ponto, as montas naturais se iniciaram e persistiram até a fêmea não mais aceitar o macho, o que foi considerado o final do cio.

### 3.7 COLETAS DE SANGUE PARA DOSAGENS HORMONAIS E METABÓLICAS

O sangue foi coletado por venopunção jugular, em três tubos contendo vácuo (Vacutainer<sup>®</sup>, Becton Dickinson and Company, São Paulo, SP, Brasil). Previamente foi realizada higienização do local da punção com o auxílio de um algodão embebido em álcool 70° GL antes da introdução da agulha na veia jugular.

Em um tubo, contendo ácido etileno diamino tetra acetato (EDTA) como anticoagulante, foram coletadas amostras para análise plasmática de progesterona. Em um segundo tubo, sem anticoagulante, foram coletadas amostras para análise sorológica de insulina e IGF-1. Em um terceiro tubo, contendo duas gotas do anticoagulante fluoreto de sódio (Glistab<sup>®</sup>, Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil), foram coletadas amostras para análise plasmática de glicose.

Após a coleta, tanto o soro quanto o plasma foram separados por centrifugação, a 3200 x g, por 15 minutos, que permitiram a coleta e armazenamento dos mesmos em frascos tipo eppendorf à – 20°C para posterior análise. O sangue dos animais em jejum foi coletado nos seguintes momentos (T): no dia anterior a inserção dos dispositivos intravaginais (T0), dois dias após a inserção dos dispositivos intravaginais (T1), dois dias antes da retirada dos dispositivos intravaginais (T2), no dia da retirada dos dispositivos intravaginais (T3) e dez dias após a retirada dos dispositivos intravaginais (T4) conforme esquematizado a seguir (Figura 3).

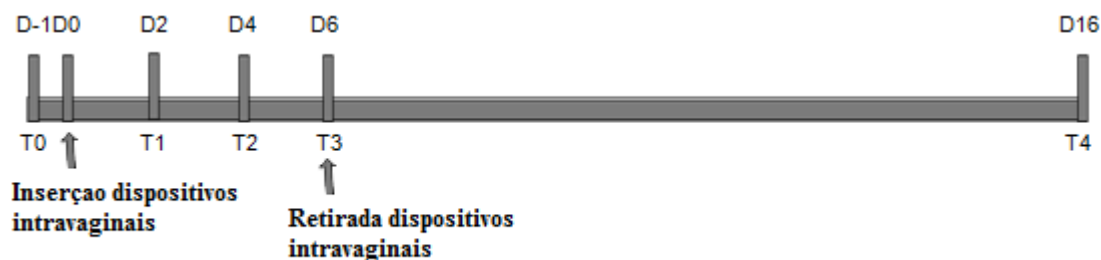


Figura 3 Representação esquemática dos tempos de coletas sanguínea realizadas durante experimento de suplementação por diferentes níveis de gordura protegida em cabras da raça Toggenburg. T0 – D-1: dia anterior à inserção dos dispositivos intravaginais; T1 – D2: dois dias após a inserção dos dispositivos intravaginais; T2 – D4: dois dias antes da retirada dos dispositivos intravaginais; T3 – D6: no dia da retirada dos dispositivos intravaginais; T4- D16: dez dias após a retirada dos dispositivos intravaginais; D0: inserção dos dispositivos intravaginais.

Foram utilizados kits de radioimunoensaio para análise de insulina (DPC - Coat-a-Count®, Diagnostic Products Corporation, USA), IGF1 (IGF1 com extração - Gênese®, São Paulo, SP, Brasil) e progesterona (Progesterone - Coat-a-Count®, Diagnostic Products Corporation, USA). Para as dosagens metabólicas de glicose foram realizadas análise com kits colorimétricos (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil) pelo método de reação de ponto final.

### 3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas seguiram as descrições de SAMPAIO (2002) e foram realizadas na Embrapa Gado de Leite. Para o processamento das análises, utilizou-se o programa SAS (Sistema para Análises Estatísticas).

As repostas estudadas foram as seguintes:

- Peso corporal (kg);
- Escore da condição corporal (1 a 5);
- Intervalo em horas da retirada da esponja ao início do estro, correspondendo ao período de tempo (horas) da retirada da esponja até a primeira aceitação ao macho;
- Cabras que apresentaram estro (%), correspondendo ao número de cabras em estro/número de cabras tratadas;



- Animais que ovularam (%), correspondendo ao número de animais que ovularam/número de animais que realizaram o exame ultrassonográfico x 100;
- Duração do estro em horas, correspondendo ao intervalo entre a primeira aceitação ao macho até a rejeição ao mesmo;
- Intervalo em horas do início do estro à ovulação, correspondendo ao momento da primeira aceitação ao macho até a não visualização no exame ultrassonográfico do folículo de maior diâmetro;
- Intervalo em horas da retirada da esponja à ovulação, correspondendo ao período entre a retirada da esponja até a não visualização no exame ultrassonográfico do folículo de maior diâmetro;
- Taxa de ovulação, correspondendo à média do número de folículos que ovularam por cabra;
- Diâmetro do maior folículo (mm), correspondendo a média entre a medição da largura e comprimento;
- Dosagem de insulina ( $\mu$ UI/mL);
- Dosagem de IGF1 (ng/mL);
- Dosagem de progesterona (ng/mL);
- Dosagem de glicose (mg/dL);

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de normalidade e homocedasticidade. Posteriormente foram avaliadas pela análise de variância. As médias do peso corporal, escore da condição corporal, intervalo da retirada da esponja ao início do estro, duração do estro, intervalo do início do estro à ovulação, intervalo da retirada da esponja à ovulação, taxa de ovulação, diâmetro do maior folículo, dosagem de insulina, IGF1, progesterona e glicose foram submetidas à análise de variância a 5% de probabilidade e, como teste de comparação de médias, foi utilizado Student-Newman-Keuls.

As variáveis qualitativas dicotômicas (animais que apresentaram estro e animais que ovularam) foram comparadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), a 5% de probabilidade (Sampaio, 2002).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PESO E ESCORE DA CONDIÇÃO CORPORAL

Na tabela 5 são apresentadas as informações quanto ao peso corporal (PC) e escore da condição corporal (EEC) ao longo do experimento.

O grupo C+1% apresenta um animal a menos que os demais grupos (C e C+4%), pois no decorrer do experimento uma cabra deste grupo desenvolveu hidrometra o que impediu que os parâmetros da mesma continuassem a ser avaliados neste estudo.

Tabela 5 Avaliação do peso corporal (PC) e escore da condição corporal (EEC) de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante protocolo hormonal curto de indução de estro sincronizado (média  $\pm$  desvio padrão)

	C	C+1%	C+4%
Peso corporal no início da adaptação da dieta (kg)	32,9 $\pm$ 7,0 (11)	32,5 $\pm$ 4,3 (10)	32,3 $\pm$ 3,8 (11)
Escore da condição corporal início da adaptação da dieta (1-5)	2,8 $\pm$ 0,3 (11)	2,8 $\pm$ 0,3 (10)	2,8 $\pm$ 0,2 (11)
Peso corporal no início do protocolo hormonal (kg)	34,4 $\pm$ 7,2 (11)	34,8 $\pm$ 4,5 (10)	32,5 $\pm$ 2,9 (11)
Escore da condição corporal no protocolo hormonal (1-5)	2,8 $\pm$ 0,4 (11)	2,9 $\pm$ 0,2 (10)	2,8 $\pm$ 0,2 (11)
Peso corporal no fim do protocolo hormonal (kg)	33,1 $\pm$ 7,8 (11)	32,6 $\pm$ 4,8 (10)	31,2 $\pm$ 2,7 (11)
Escore da condição corporal do protocolo hormonal (1-5)	2,84 $\pm$ 0,30 (11)	2,80 $\pm$ 0,16 (10)	2,77 $\pm$ 0,21 (11)

P>0,05 de acordo com teste de Kruskal - Wallis

Observa-se que os animais em nenhum momento apresentaram diferenças no PC ou no EEC nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de avaliação. A ausência de diferença no momento inicial do estudo justifica-se pela metodologia utilizada, quando na divisão dos animais nos grupos experimentais esta resposta foi balanceada entre os grupos, evitando assim o efeito desta característica nas demais respostas estudadas. Observa-se também que não houve alteração do peso ao longo da adaptação dos animais à dieta, tal fato é decorrência da dieta estar adequada às exigências dos animais ao longo do período de adaptação e também que os mesmos

estavam adaptados à dieta. Quando as dietas foram alteradas de acordo com cada grupo experimental o período curto de suplementação não foi capaz de determinar o aumento de peso dos animais.

Assim, podemos afirmar que o efeito da nutrição sobre a reprodução pode ser classificado conforme a proposta de SMITH & STEWART (1990), como efeito imediato, onde a suplementação nutricional é capaz de influenciar os parâmetros reprodutivos de um animal sem causar alterações no PC ou ECC. Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por LANDAU & MOLLE (1997) ao realizarem suplementação nutricional em ovelhas por um curto período de tempo, a suplementação foi suficiente para alterar parâmetros reprodutivos, sem influenciar em PC ou ECC.

## 4.2 COMPORTAMENTO SEXUAL

Na tabela 6 são apresentadas as informações referentes ao comportamento sexual.

Tabela 6 Avaliação do comportamento sexual de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução de estro sincronizado (média  $\pm$  desvio padrão)

	C	C+1%	C+4%
Cabras que apresentaram estro (%)	100,0% (11/11)	100,0% (10/10)	90,9% (10/11)
Intervalo da retirada da esponja ao início do estro (horas)	28,0 $\pm$ 12,0 (10)	32, 8 $\pm$ 11,6 (10)	30,4 $\pm$ 9,5 (10)
Duração do estro (horas)	31,6 $\pm$ 12,3 (11)	43,2 $\pm$ 12,9 (10)	40,8 $\pm$ 14,1 (10)
Intervalo do início do estro ovulação (horas)	30,6 $\pm$ 10,5 <sup>a</sup> (10)	30,3 $\pm$ 11,1 <sup>a</sup> (8)	18,3 $\pm$ 6,1 <sup>b</sup> (8)

<sup>a,b</sup> Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem ( $P < 0,05$ ), pelo teste Student-Newman-Keuls.

Em relação ao percentual de animais que apresentaram estro, observa-se que não houve diferença entre grupos ( $P > 0,05$ ) e que o percentual encontrado foi satisfatório (C: 100%; C+1%: 100%; C+4%: 90,9%), onde apenas uma cabra do C+4% não apresentou estro.

Estes resultados seguerem que o protocolo de curta duração utilizado foi eficiente em induzir o estro dos animais experimentais. FONSECA et al (2005) ao compararem protocolos de curta (6 dias) e média (9 dias) duração em cabras da raça

Toggenburg, obtiveram um percentual de 89,5% e 84,2% respectivamente. Outros autores (BICUDO & SOUSA, 2003; ATAMAN et al., 2006; DOGAN et al., 2008; NASCIMENTO, 2008; FONSECA et al., 2009; KARAKA et al., 2010) também confirmaram a eficácia de protocolos de curta duração em induzir o estro de pequenos ruminantes.

Há poucos estudos em relação à suplementação de gordura protegida em pequenos ruminantes e não são encontrados dados referentes ao percentual de animais em estro, nem de uma possível influência da nutrição sobre este parâmetro. Os resultados no presente estudo refletem o cuidado ao selecionar animais sadios e em idade reprodutiva que foram capazes de responder com grande desempenho ao protocolo curto de indução de estro sincronizado e foram capazes de produzir estradiol.

O intervalo, em horas, da retirada da esponja ao início do estro foi de  $28,0 \pm 12,0$ ;  $32,8 \pm 11,6$ ;  $30,4 \pm 9,5$  horas para C; C+1% e C+4% respectivamente, e não diferiu entre grupos ( $P>0,05$ ). Este resultado sugere que o protocolo foi eficiente em sincronizar o estro desses animais, já que a manifestação do mesmo ficou concentrada em um curto intervalo de tempo. FONSECA et al (2005) com protocolo similar ao utilizado, utilizando esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona por 6 dias com aplicação de 200 UI de eCG e 22,5 µg de cloprostenol 24 horas antes da retirada das esponjas, em cabras da raça Toggenburg, encontraram um intervalo de  $46,1 \pm 15,0$  horas.

REQUEIRO et al (1999) obtiveram um intervalo de  $34,5 \pm 11,9$  horas da retirada dos implantes intravaginais impregnados com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (que permaneceram inseridos por 14 dias) até a manifestação de estro em cabras, resultado próximo ao encontrado neste experimento. A variação da duração, em horas, da retirada da esponja até manifestação de estro pode variar muito entre estudos de acordo com o tipo de protocolo utilizado e a duração do mesmo.

Os resultados obtidos para duração do estro demonstram que a suplementação com gordura protegida (Megalac®) provavelmente não foi suficiente para exercer um estímulo sobre a produção de estradiol por conta dos folículos ovarianos. Um aumento nas concentrações de estradiol teria antecipado o início do estro nestes animais.

Corroborando com os resultados de HARUNA et al. (2009), que ao realizarem suplementação energética em cabras por um período de sete dias, encontrou diferença na pulsatilidade de LH e FSH, hormônios responsáveis pela produção de estradiol, entretanto, esta alteração endócrina não surtiu efeito sobre as funções ovarianas.

Segundo Dias, et al. (2009), a utilização de gordura em dietas de vacas pode melhorar o desempenho reprodutivo, independentemente de sua contribuição energética, pois os ácidos graxos podem modificar algumas vias específicas e influenciar o metabolismo de hormônios esteróides. Os resultados do presente estudo, entretanto, sugerem que os níveis de gordura protegida (Megalac®) suplementados nas dietas talvez não tenham sido suficientes para influenciar o aumento na produção do estrogênio.

Em relação à duração do estro, em horas, não foi encontrada diferença ( $P > 0,05$ ) entre grupos (C -  $31,6 \pm 12,3$ ; C+1% -  $43,2 \pm 12,9$ ; C+4% -  $40,8 \pm 14,1$ ). Esta duração encontra-se dentro do intervalo de duração de estro em cabras estabelecido por MACHADO & SIMPLICIO (1995) que estipula uma média de 36 horas, podendo sofrer variações em um intervalo de 24 a 48 horas. De acordo com FATET et al (2011), a duração do estro varia de acordo com a idade, raça, estação, presença do macho e variação entre indivíduos. FONSECA et al. (2005) com protocolo similar, obtiveram uma duração de estro de  $30,0 \pm 12,0$  horas, próxima a encontrada neste estudo.

VENTER & GREYLING (1994) sincronizaram ovelhas com protocolo de longa duração (14 dias) e testaram três tipos de suplementação energética com grãos de tremoço: o grupo 1 não recebeu qualquer tipo de suplementação; grupo 2 recebeu suplementação por duas semanas após a retirada das esponjas; grupo 3 recebeu suplementação por uma semana antes da retirada das esponjas e duas semanas após; e o grupo 4 recebeu suplementação do início do protocolo de sincronização por um período total de quatro semanas. Os mesmos não obtiveram diferenças na duração do estro, em horas, entre grupos ( $33,6 \pm 17,7$ ;  $33,9 \pm 12,4$ ;  $33,1 \pm 12,4$ ;  $28,2 \pm 12,3$ , respectivamente).

O estro é caracterizado pela produção de estradiol pelos folículos em crescimento e em maiores concentrações pelo folículo dominante, sob o estímulo do

LH e FSH. Podemos supor que a suplementação com gordura protegida utilizada neste estudo não alterou ou não provocou uma alteração suficiente sobre as concentrações de LH e FSH para que houvesse alteração nas concentrações de estradiol nos grupos, e para que este exercesse influência, portanto, sobre a duração do estro.

Conforme citado anteriormente, ZABULI et al. (2010) não encontraram alteração nas concentrações de FSH e estradiol de cabras suplementadas com dietas energéticas quando comparadas com cabras sob dieta de manutenção. O mesmo foi demonstrado por VIÑALES et al. (2005), ao duplicar a energia da dieta de manutenção em ovelhas.

Segundo SCARAMUZZI et al (1993), a IGF-1 é um potente estimuladora da esteroidogênese. No presente estudo as concentrações de IGF-1 não foram alteradas, sendo uma possível explicação para a suposição da ausência do aumento das concentrações de estrogênio e, consequentemente, na duração do estro.

O intervalo do início do estro à ocorrência da ovulação, em horas, foi menor ( $P < 0,05$ ) no C+4% ( $18,33 \pm 11,0$ ) do que nos demais grupos (C  $30,59 \pm 10,51$ ; C+1%  $30,32 \pm 11,11$ ), que não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ).

Não foi encontrado na literatura existentes dados à respeito deste intervalo em pequenos ruminantes.

O resultado encontrado no presente estudo pode ter sido devido ao aumento na taxa de catabolismo da progesterona pelo fígado em determinados momentos em decorrência de um maior aporte sanguíneo hepático em animais submetidos a altos níveis de energia na dieta, conforme sugerido por PARR et al (1993).

O aumento do catabolismo hepático de  $P_4$  por sua vez, ao levar à diminuição das concentrações circulantes deste hormônio, permite que os níveis basais de LH e a frequência de pulsos do mesmo se tornassem maiores. Este evento, descrito por WALTERS & SCHALLENBERGER (1984), ocorre em ciclo estral normal sempre que há declínio de  $P_4$ . O aumento das concentrações basais e na frequência pulsátil, por sua vez, permitiu que o folículo dominante completasse seu desenvolvimento até o ponto de secretar estradiol suficiente para permitir o pico de LH e a consequente ovulação (FORTUNE, 1994) antes dos demais grupos, que provavelmente estariam

com um catabolismo menor deste hormônio. Adicionalmente, HARUNA et al. (2009) e ZABULI et al. (2009) encontraram aumento nas concentrações de LH em cabras suplementadas energeticamente e associaram ao aumento nas concentrações de glicose e insulina.

#### 4.3 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Na tabela a seguir (tabela 7) são apresentados os resultados obtidos referentes às avaliações ultrassonográficas.

Tabela 7. Avaliação ultrassonográfica de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro (média  $\pm$  desvio padrão)

	C	C+1%	C+4%
Animais que ovularam (%)	100,00% (11/11)	90,00% (9/10)	100,00% (11/11)
Intervalo da retirada da esponja à ovulação (horas)	56,3 $\pm$ 12,6 <sup>a</sup> (11)	57,7 $\pm$ 8,7 <sup>a</sup> (9)	45,2 $\pm$ 8,0 <sup>b</sup> (11)
Taxa de ovulação	1,3 $\pm$ 0,5 (11)	1,1 $\pm$ 0,3 (9)	1,2 $\pm$ 0,4 (11)
Diâmetro maior folículo (mm)	7,5 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup> (11)	7,0 $\pm$ 1,5 <sup>a,b</sup> (9)	6,3 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup> (11)

<sup>a,b</sup>letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem ( $p < 0,05$ ), pelo teste de Student-Newman-Keuls.

O percentual de animais que ovularam não apresentou diferença entre grupos (100%; 90% e 100% para C,C+1%,C+4%, respectivamente).

MENCHACA et al. (2007), ao utilizarem protocolo de indução e sincronização de estro de curta duração em cabras, por cinco dias, utilizando em um grupo a associação do progestágeno com eCG, no segundo com benzoato de estradiol e no terceiro somente o progestágeno, obtiveram 62,5%, 100% e 87,5% dos animais ovulando, respectivamente.

Diversos estudos corroboram o encontrado, demonstrando não haver diferença entre protocolos de curta, média ou longa duração, mostrando eficácia igual ou mesmo superior quando se diz respeito a protocolos de curta duração (BICUDO & SOUSA, 2003; FONSECA et al., 2005; ATAMAN et al., 2006; DOGAN et al., 2008; KARAKA et al., 2010).



Estudo realizado por VENTURI (2011) com suplementação energética em ovelhas durante protocolo de indução e sincronização de estro encontra-se de acordo com o presente estudo não tendo a autora encontrado diferença entre grupos quando em relação ao percentual de ovelhas que ovularam.

Este resultado mostra que possivelmente tanto no estudo de VENTURI (2011) quanto no presente estudo a dieta com suplementação de gordura protegida (Megalac®) não exerceu nenhum tipo de influência, seja essa negativa ou positiva, sobre este aspecto da reprodução. O alto percentual de animais ovulando é um reflexo do cuidado na seleção de animais saudáveis e em idade reprodutiva e de um protocolo eficaz de indução e sincronização de estro.

A respeito do intervalo da retirada da esponja à ovulação, o grupo C+4% apresentou um intervalo menor ( $45,2 \pm 8,0$  horas;  $P < 0,05$ ) quando comparado aos demais grupos (C:  $56,3 \pm 12,6$ ; C+1%:  $57,7 \pm 8,7$  horas) que não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ).

Este resultado já era esperado uma vez que o intervalo do estro a ovulação também foi menor para C+4%, e não houve diferença entre grupos no intervalo da retirada da esponja ao início do estro. Sendo assim, o resultado aqui encontrado pode ser justificado pelos mesmos motivos citados para o parâmetro discutido anteriormente.

A taxa de ovulação foi de  $1,3 \pm 0,5$  para C,  $1,1 \pm 0,3$  para C+1% e de  $1,2 \pm 0,4$  para C+4%, não tendo sido encontrada diferença entre grupos ( $P > 0,05$ ).

TITI & AWAD (2007) não obtiveram melhora no desempenho reprodutivo de cabras suplementadas com gordura, onde foi observado somente um aumento no peso dos cabritos ao nascimento. Em ovelhas bem nutridas, AFONSO et al. (2008) também não verificaram melhora nos índices reprodutivos após a suplementação com gordura protegida no período pós-parto, entretanto, DE FRIES et al. (1998) observou um aumento no número de folículos ao utilizar a gordura na dieta de bovinos.

A inclusão de gordura na dieta de ruminantes, como forma de permitir um alto consumo de energia, nem sempre é um método eficaz, uma vez que altos níveis de gordura podem reduzir a digestão da matéria seca no rúmen, provocando,

consequentemente, uma menor disponibilidade de energia (NRC, 2007; TITI & AWAD, 2007).

As concentrações de glicose e insulina são as responsáveis pela estimulação ovariana (VIÑALES, 2003). DOWNING et al. (1995b) obtiveram aumento na taxa de ovulação após a infusão de glicose diária por um período de cinco dias da fase luteal do ciclo estral de ovelhas. Em experimento com infusão diária de insulina bovina a partir do sétimo dia do ciclo estral de ovelhas, SUGUNA et al. (2009), também obtiveram uma maior taxa de ovulação no grupo tratado.

Para DOWNING et al. (1995a) a insulina, devido ao seu papel no crescimento e metabolismo celular, está envolvida na mediação das respostas ovarianas ao estímulo nutricional, seja diretamente, ou mais provavelmente pela estimulação da captação de glicose mediada pela insulina.

Como será discutido posteriormente, a insulina e a glicose possuem um aumento transitório e imediato após o início da suplementação, e este aumento deve estar associado ao momento da seleção dos folículos ovulatórios. Provavelmente o efeito do estímulo nutricional sobre as concentrações deste hormônio e deste metabólito não é mantido devido ao feedback negativo natural do organismo do animal que rapidamente restabelece a homeostase entre as concentrações plasmáticas de glicose e insulina, fazendo com que a foliculogênese retorne ao seu padrão pré estimulação nutricional (SCARAMUZZI et al., 2006).

Possivelmente, neste estudo, faltou sincronia destes dois eventos, já que GUTIERREZ et al. (2011) afirmaram que o aumento das concentrações de glicose deve ser estabelecido logo após a luteólise, no início da fase de crescimento e seleção folicular, podendo ter sido este o motivo da falha em aumentar a taxa de ovulação.

O diâmetro do maior folículo, considerado como o folículo ovulatório, foi menor ( $P < 0,05$ ) no grupo C+4% ( $62,27 \pm 6,78$  mm) quando comparado com o grupo C ( $74,45 \pm 8,31$  mm), entretanto C+4% não diferiu de C+1% ( $69,83 \pm 15,28$  mm) que também não diferiu de C ( $P > 0,05$ ).

CERRI et al. (2009) não verificaram influência do tipo de ácidos graxos da dieta sobre as respostas ovulatórias, o diâmetro do maior folículo e do corpo lúteo durante a sincronização de vacas.

VENTURI (2011) em estudo com suplementação energética de curta duração durante protocolo de indução e sincronização de estro também não detectou diferença no diâmetro do folículo ovulatório de ovelhas Santa Inês.

Entretanto, trabalhos onde a gordura foi utilizada como fonte de energia na dieta de bovinos, houve aumento do tamanho do folículo maior (DE FRIES et al., 1998; MOALLEN et al., 1999).

VIÑALES et al. (2005), ao estudar a suplementação energética em ovelhas, demonstrou que a fase de crescimento e de dominância, a vida do folículo ovulatório é maior naquelas suplementadas ( $4,5 \pm 0,4$ ;  $5,2 \pm 0,5$ ;  $6,0 \pm 0,3$  dias, respectivamente) quando comparadas com o grupo controle ( $3,4 \pm 0,4$ ;  $3,7 \pm 0,5$ ;  $5,1 \pm 0,3$  dias, respectivamente). Aplicando esse conhecimento ao encontrado neste estudo, os folículos ovulatórios dos animais do C+4% tiveram um crescimento mais lento e juntando ao fato desses animais terem apresentado um intervalo mais curto do estro à ovulação, devido a um possível maior catabolismo hepático da progesterona levando a uma queda nas concentrações desse hormônio e consequentemente uma ovulação mais rápida esta se deu com esses folículos em menores diâmetros.

#### 4.4 AVALIAÇÃO HORMONAL

Na tabela 8 são apresentados os dados referentes às dosagens de insulina, IGF-1 e progesterona.

Tabela 8 Concentrações circulantes de insulina ( $\mu\text{UI/mL}$ ), IGF1 ( $\text{ng/mL}$ ) e progesterona ( $\text{ng/mL}$ ) em diferentes momentos, de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro (média  $\pm$  desvio padrão)

	C	C+1%	C+4%
<b>Insulina (<math>\mu\text{UI/mL}</math>)</b>			
Um dia antes da inserção dos implantes de P4 (T0)	9,1 $\pm$ 4,5 (11)	8,6 $\pm$ 2,2 (10)	6,8 $\pm$ 3,0 (11)
Dois dias após a inserção dos implantes de P4 (T1)	6,9 $\pm$ 1,8 (11)	9,0 $\pm$ 5,7 (10)	6,5 $\pm$ 3,2 (11)
Dois dias antes da retirada dos implantes de P4 (T2)	7,3 $\pm$ 6,0 (11)	9,8 $\pm$ 3,4 (10)	9,8 $\pm$ 5,0 (11)
No dia da retirada dos implantes de P4 (T3)	7,8 $\pm$ 3,0 (11)	9,0 $\pm$ 3,5 (10)	7,4 $\pm$ 6,4 (11)
Dez dias após a retirada dos implantes de P4(T4)	10,0 $\pm$ 5,6 (11)	7,1 $\pm$ 4,1 (10)	5,3 $\pm$ 2,7 (11)
<b>IGF1 (<math>\text{ng/mL}</math>)</b>			
Um dia antes da inserção dos implantes de P4 (T0)	334,9 $\pm$ 33,9 (11)	331,4 $\pm$ 31,7 (10)	372,3 $\pm$ 31,6 (11)
Dois dias após a inserção dos implantes de P4 (T1)	342,6 $\pm$ 45,6 (11)	189,7 $\pm$ 79,7 (10)	239,7 $\pm$ 52,8 (11)
Dois dias antes da retirada dos implantes de P4 (T2)	308,1 $\pm$ 47,5 (11)	305,1 $\pm$ 52,8 (09)	305,3 $\pm$ 43,4 (11)
No dia da retirada dos implantes de P4 (T3)	295,3 $\pm$ 45,4 (11)	267,8 $\pm$ 27,0 (10)	314,5 $\pm$ 48,3 (11)
Dez dias após a retirada dos implantes de P4(T4)	272,6 $\pm$ 46,4 (11)	290,3 $\pm$ 26,9 (10)	344,8 $\pm$ 44,8 (11)
<b>Progesterona (<math>\text{ng/mL}</math>)</b>			
Um dia antes da inserção dos implantes de P4 (T0)	1,7 $\pm$ 3,8 <sup>B</sup> (11)	2,0 $\pm$ 3,8 <sup>B</sup> (9)	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup> (11)
Dois dias após a inserção dos implantes de P4 (T1)	1,6 $\pm$ 3,3 <sup>B</sup> (11)	1,5 $\pm$ 2,7 <sup>B</sup> (10)	0,5 $\pm$ 0,9 <sup>B</sup> (11)
Dois dias antes da retirada dos implantes de P4 (T2)	0,3 $\pm$ 0,3 <sup>B</sup> (11)	0,2 $\pm$ 0,2 <sup>B</sup> (9)	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup> (10)
No dia da retirada dos implantes de P4 (T3)	0,2 $\pm$ 0,2 <sup>B</sup> (11)	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup> (8)	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup> (8)
Dez dias após a retirada dos implantes de P4 (T4)	7,6 $\pm$ 3,9 <sup>A</sup> (11)	7,0 $\pm$ 2,0 <sup>A</sup> (10)	7,0 $\pm$ 3,1 <sup>A</sup> (11)

<sup>A,B</sup> Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Student-Newman-Keuls.

As concentrações plasmáticas de insulina não demonstraram variações, quer seja em relação ao tratamento ou em relação ao tempo.

Trabalhos têm mostrado que o fornecimento de dietas ricas em ácidos graxos de cadeia longa aumenta a gliconeogênese hepática devido ao aumento na secreção de propionato no rúmen (SELNER & SCHULTZ, 1980; CHALUPA et al., 1986; KEELE et al., 1989). Esta maior gliconeogênese tem sido associada a aumentos nas

concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, que são conhecidas por influenciar a população de folículos ovarianos (THOMAS & WILLIAMS, 1996).

ESPINOZA et al. (2008), ao suplementar ovelhas com gordura bovina obtiveram maiores concentrações de insulina nesses animais quando comparados com as concentrações dos animais do grupo controle que não receberam suplementação qualquer.

ZABULI et al. (2010) realizaram suplementação energética intermitente com 250% da energia requerida por cabras. Do dia 12 ao dia 15 do ciclo estral e do dia 18 ao dia 21. A insulina, conforme já relatado por este autor em estudo prévio, teve um aumento do primeiro ao quarto dia após a primeira suplementação e tornou a ter um aumento no segundo e no terceiro dia após a segunda suplementação, confirmando que o aumento deste hormônio possui um caráter transitório e se dá logo após o estímulo energético inicial fato confirmado também por HARUNA et al. (2009).

DOWNING et al. (1999) realizaram experimento com infusão na artéria ovariana de glicose, insulina e a combinação de glicose e insulina por um período de 13,5 horas no dia 11 do ciclo estral de ovelhas e não obtiveram resultados quando da infusão de glicose ou insulina separadamente. A infusão de insulina aumentou a concentração desta no plasma ovariano, mas rapidamente retornou às concentrações pré-infusão. Entretanto, quando infundidas em conjunto, foram capazes de diminuir significativamente a secreção de androstenediona e, em menores proporções, de estradiol. Após a infusão conjunta, as concentrações de insulina aumentaram no plasma jugular, o que indica que a insulina teve uma ampla circulação ou mais provável que houve uma maior produção e secreção de insulina endógena em resposta à infusão de glicose. Os autores sugerem que a repentina disponibilidade de insulina e glicose adicional aumenta a captação de glicose mediada pela insulina por parte dos folículos, como sugerido por outros autores (DOWNING et al., 1995a).

DOWNING et al. (1999) sugeriram que a glicose e insulina atuam no ovário aumentando a taxa de ovulação pois há um aumento correspondente no número de folículos desenvolvidos ao estágio ovulatório e especulam que a resposta ao aumento

na disponibilidade de glucose e insulina é uma inibição da secreção de estradiol pelo folículo dominante levando a uma redução do controle de feedback negativo do FSH.

Apesar de um aumento nas concentrações de insulina ser uma resposta endócrina comum a uma grande variedade de tratamentos nutricionais (DOWNING & SCARAMUZZI, 1991), a administração de insulina em ovelhas tem demonstrado não possuir efeito na taxa de ovulação, provavelmente devido a uma consequente redução das concentrações de glicose (LEURY et al., 1990; DOWNING & SCARAMUZZI, 1997)

Neste experimento não foram realizadas coletas sanguíneas diárias para dosagens hormonais, o que possivelmente pode explicar a ausência de diferença entre grupos, já que de acordo com os autores citados existe um período em que realmente há uma notável diferença entre tratamentos.

As concentrações plasmáticas de IGF1 também não diferiram quer seja entre tratamentos ou entre tempos.

VIÑOLES et al. (2005) não encontrou diferença nas concentrações circulantes de IGF1 entre ovelhas suplementadas por seis dias com duas vezes a energia da dieta de manutenção quando comparada a ovelhas sem qualquer tipo de suplementação, assim como DOWNING et al. (1995a) que também não obtiveram diferença entre ovelhas do grupo suplementado e controle. Estes resultados estão de acordo com o presente estudo.

Entretanto, as concentrações circulantes de IGF1 podem não ser um bom indicador da real disponibilidade deste fator para os folículos, já que esta disponibilidade é regulada por proteases e proteínas ligadoras produzidas à nível folicular (FORTUNE et al., 2004). A suplementação por um curto período de tempo diminui o percentual de IGFBP2 e causa mudanças na expressão de mRNA dos receptores de IGF1 (MUÑOZ-GUTIERREZ et al., 2004).

WILLIAMS (2001) demonstrou que a suplementação de gordura estimula o aumento das concentrações de hormônio do crescimento (GH) no soro de bovinos de corte, ocorrendo simultaneamente a um maior acúmulo de IGF-I no fluido folicular. Receptores de hormônios do crescimento estão presentes nos folículos de ovários bovinos, sendo mais abundante no CL (LUCY et al., 1993).

Sendo assim, se a IGF1 encontra-se envolvida na resposta folicular à estimulação nutricional, então estudos relacionados ao ambiente intrafolicular devem ser realizados para esclarecer esta questão.

A concentração plasmática de  $P_4$  não apresentou diferença entre tratamentos ( $P>0,05$ ), entretanto, apresentou diferença entre tempos ( $P<0,05$ ). O T4, dez dias após a retirada dos implantes de  $P_4$ , apresentou concentrações maiores que os demais tempos, nos três grupos.

Este fato pode ser facilmente explicado, já que esse tempo de coleta se deu após a ovulação, momento o qual o suprimento sanguíneo das células da granulosa aumenta, havendo seu crescimento e formação do corpo lúteo que completa atividade funcional por volta do sétimo dia após a ovulação (ROBERTSON, 1977). A luteinização resulta em uma mudança na secreção de estradiol para progesterona fazendo com que haja aumento nas concentrações desse hormônio e que este permaneça em níveis elevados ( $>1\text{ng/ml}$ ) durante aproximadamente 16 dias (FATET et al., 2011).

ARASHIRO (2008) demonstrou em cabras da raça Toggenburg que as concentrações de  $P_4$  sofrem um aumento progressivo até o dia nove do ciclo estral (dia 2:  $0,33\pm0,22$ ; dia 3:  $1,57\pm1,32$ ; dia 4:  $3,44\pm2,12$ ; dia 5:  $3,52\pm0,87$ ; dia 6:  $4,40\pm1,03$ ; dia 7:  $4,71\pm1,34$ ; dia 8:  $5,23\pm0,94$ ; dia 9:  $6,31\pm2,07$ ; dia 10:  $5,85\pm1,82$ ; dia 11:  $6,43\pm2,18$ ) e estes níveis demonstram uma queda acentuada quando na ausência de uma gestação, indo à níveis inferiores a  $1\text{ng/mL}$ .

Alguns estudos (GRUMMER & CARROLL, 1988; ARMSTRONG et al., 2002; MOALLEM et al., 2007) mostram que o colesterol é um precursor para a síntese luteínica de progesterona em muitas espécies, e que dietas lipídicas poderiam alterar a esteroidogênese ovariana. Essas dietas alterariam o nível do principal substrato, aumentando o nível de colesterol no plasma e a liberação para o tecido ovariano, aumentando a concentração de colesterol no fluido folicular e no corpo lúteo (GRUMMER & CARROLL, 1991; STAPLES et al., 1998).

MANCIO et al. (1999) observaram, em novilhas que receberam suplementação lipídica, maiores concentrações de progesterona no soro quando comparados aos do grupo-controle.

Estudo de GHOREISHI et al. (2007) demonstraram que ovelhas alimentadas com diferentes percentuais de gordura protegida tiveram maiores concentrações plasmáticas de progesterona, colesterol, HDL e triacilglicerol do que aquelas que receberam gordura não protegida, entretanto, ESPINOZA et al. (2008), assim como no presente estudo, não encontraram alteração nas concentrações de progesterona em ovelhas com dietas suplementadas com gordura bovina.

HAWKINS et al. (1995) sugeriram que os aumentos nas concentrações plasmáticas de progesterona em vacas alimentadas com gordura não são devido ao aumento da sua síntese, mas sim devido a uma menor taxa de sua metabolização.

Segundo HESS (2008) uma taxa de inclusão ótima de gordura suplementar é menor que 3%, não devendo ultrapassar 4% da disponibilidade total de energia da dieta com o fornecimento de gordura.

Há a possibilidade de, no presente estudo, o percentual de inclusão de gordura protegida (Megalac®) ter sido baixo no Grupo C+1% e alto no Grupo C+4%, o que pode justificar a ausência de melhorias nos parâmetros reprodutivos destes animais, já que altos níveis de gordura podem reduzir a digestão da matéria seca no rúmen, provocando, conseqüentemente, uma menor disponibilidade de energia (NRC, 2007, TITI & AWARD, 2007).

#### 4.5 AVALIAÇÃO METABÓLICA

Na tabela 9 são apresentados os resultados referentes às dosagens de glicose.



Tabela 9 Dosagens de glicose (mg/dL), em diferentes tempos, de cabras submetidas à diferentes níveis de gordura protegida durante o protocolo hormonal curto de indução e sincronização de estro(média ± desvio padrão)

	C	C+1%	C+4%
<b>Glicose (mg/dL)</b>			
Um dia antes da inserção dos implantes de P4 (T0)	58,0 ± 5,5 <sup>B</sup> (11)	57,1 ± 6,3 <sup>B</sup> (10)	53,6 ± 5,0 <sup>B</sup> (11)
Dois dias após a inserção dos implantes de P4 (T1)	56,5 ± 8,3 <sup>B</sup> (11)	56,1 ± 5,6 <sup>B</sup> (10)	57,7 ± 5,4 <sup>B</sup> (11)
Dois dias antes da retirada dos implantes de P4 (T2)	54,6 ± 5,0 <sup>B</sup> (11)	54,3 ± 6,8 <sup>B</sup> (10)	57,4 ± 5,4 <sup>B</sup> (11)
No dia da retirada dos implantes de P4 (T3)	65,3 ± 6,5 <sup>A</sup> (11)	63,3 ± 6,9 <sup>A</sup> (10)	69,1 ± 8,9 <sup>A</sup> (11)
Dez dias após a retirada dos implantes de P4(T4)	54,2 ± 6,7 <sup>B</sup> (11)	51,7 ± 3,5 <sup>B</sup> (10)	53,8 ± 9,5 <sup>B</sup> (11)

Letras maiúsculas diferentes entre colunas diferem ( $p < 0,05$ ), pelo teste de Student-Newman-Keuls.

As concentrações de glicose não apresentaram diferença entre tratamentos, mas sim entre tempo, tendo sido T3 (no dia da retirada dos implantes de P<sub>4</sub>) o tempo com a maior concentração de glicose nos três grupos (65,32±6,47; 63,25±6,90; 69,14±8,90 mg/dL, C, C+1%, C+4%, respectivamente).

Estes dados encontram-se de acordo com VIÑALES et al. (2005) que ao suplementarem ovelhas por um período de seis dias com o dobro do valor energético, encontraram um aumento em ambos os grupos (suplementado e controle) ao sexto dia da suplementação, como ocorrido neste estudo (T3). Neste mesmo estudo, foi relatada uma diferença na concentração de glicose entre grupos, ao terceiro dia da suplementação, onde o grupo suplementado demonstrou maiores concentrações do que o grupo controle.

Trabalhos têm mostrado que o fornecimento de dietas ricas em ácidos graxos de cadeia longa aumenta a gliconeogênese hepática devido ao aumento na secreção de propionato no rúmen (SELNER & SCHULTZ, 1980; CHALUPA et al., 1986).

DOWNING et al. (1999) ao realizarem infusão de glicose, insulina ou combinação de insulina e glicose diretamente na artéria ovariana por 13,5 horas no dia 11 do ciclo estral de ovelhas, demonstraram que as ações da glicose no ovário requerem a presença de insulina, já que somente quando em conjunto obtiveram efeitos nas respostas ovarianas. Outras conclusões e resultados a respeito deste estudo já foram anteriormente discutidos no tópico relacionado à insulina.

SOMCHIT et al.(2007), ao suplementarem ovelhas com grãos de tremoços por cinco dias, obtiveram um aumento nas concentrações de glicose nestes animais quando comparado aos animais do grupo controle. Um dia antes do início da suplementação a concentração de glicose no grupo suplementado e no grupo controle foi de  $50,2 \pm 2,00$  e  $51,2 \pm 1,70$  mg/dL, respectivamente. Após o início do tratamento, a concentração plasmática da glicose no grupo suplementado aumentou significativamente e se manteve elevado pelos cinco dias do tratamento. No mesmo estudo, ao compararem as concentrações de glicose na circulação e no fluido folicular, demonstraram que as concentrações nesse último foram maiores do que as concentrações circulantes em folículos menores que 3,5 mm e que as concentrações no fluido folicular e plasmática estão positivamente correlacionadas. Ovelhas que demonstraram maior concentração plasmática de glicose tenderam a ter maiores concentrações de glicose no fluido folicular, fato também descrito por LEROY et al. (2004).

As concentrações de glicose encontradas nesse experimento foram inversamente correlacionadas com as concentrações de progesterona ( $r=0,65$  –  $P<0,001$ ) demonstrando que quanto maiores as concentrações de glicose, devido ao maior aporte de energia, menores as concentrações de progesterona. Resultado semelhante foi encontrado por SOMCHIT et al. (2007) onde ao avaliar o fluido folicular de um grupo de ovelhas suplementadas com dieta energética (grãos de tremoços) por um período de cinco dias, quando comparado ao grupo controle encontraram uma correlação negativa entre a concentração de progesterona e de glicose no fluido folicular. Concentrações altas de glicose significaram concentrações baixas de  $P_4$ .

## **5 CONCLUSÃO**

A partir do presente estudo podemos concluir que a suplementação com diferentes níveis de gordura protegida (Megalac®) em cabras durante protocolo curto de indução e sincronização de estro (seis dias) não se demonstrou eficiente em alterar os parâmetros reprodutivos, como taxa de ovulação e comportamento sexual.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. P. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* v.54, p.17-32, 1999.

ADAMS, G.P., KOT, K., SMITH, C.A., GINTHER, O.J. Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates in heifers. *Can. J. Anim. Sci.* v.73, p.67-275, 1993.

AFONSO, V.A.C.; COSTA, R.L.D.; FONTES, R.S.; et al. Intervalo de partos em ovelhas da raça Santa Inês suplementadas com ácidos graxos. *Veterinaria y Zootecnia*, v.15, p.129, 2008.

ARASHIRO, E.K.N.; *Função Luteal em Caprinos: Características Morfológicas, Endócrinas e atributos de Imagen*. 106p. Niterói, RJ: Universidade Federal Fluminense. Dissertação (Máster of Science) – Universidade Federal Fluminense, 2008.

ARIAS, P., RODRIGUEZ, M., SZWARCFARB, B., SINAY, I.R., MOGUILEVSKY J.A. Effect of insulin on LHRH release by perfused hypothalamic fragments. *Neuroendocrinology*, v.56, p.415–418, 1992.

ARMSTRONG, D.G., BAXTER, G., GUTIERREZ, C.G., HOGG, C.O., GLAZYRIN, A.L., CAMPBELL, B.K., ET AL. Insulin –like growth factor binding protein -2 and -4 mRNA expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and developmental status. *Endocrinology*, v.139, p.2146-2154, 1998.

ARMSTRONG, D.G., BAXTER, G., HOOG, C.O., WOAD, K.J. Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles. *Reproduction*, v.123, p.789-797, 2002a.

ARMSTRONG, D. G., GONG J. G. , GARDNER, J.O., BAXTER, G., HOGG, C.O., WEBB, R. Steroidogenesis in bovine granulosa cells: the effect of short-term changes in dietary intake. *Reproduction*, v.123, p.371–378, 2002b.

ARMSTRONG, D. G., GONG, J.G., WEBB, R. Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: Physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reproduction Suppl.*, v.61, p.403–414, 2003.

ARMSTRONG, D. G., MCEVOY, T.G., BAXTER, G., ROBINSON, J.J., HOGG, C.O., WOAD, K.J., WEBB, R. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol. Reprod.*, v.64, p.1624–1632, 2001.

ARMSTRONG, D.G., WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction*, v.2, p.139-146, 1997.

ATAMAN, M.B., AKÖZ, M., AKMAN, O. Induction of synchronized oestrus in akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of long-term and short-term progesterone treatments. *Revue Méd. Vét.*, v.157, s.5, p.257-260, 2006.

AUSTIN, E. J., MIHM, M., EVANS, A.C.O., KNIGHT,P.G., IRELAND, J.L.H., IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.64, p.839–848, 2001.

BAO, B., GARVERICK, H.A. Expression of steroidogenic enzymes and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Anim. Sci.* v.76, p.1903–1921, 1998.

BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., COOK, S.J., CHANDOLIA, R.K., HONARAMOOZ, A., RAWLINGS, N.C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil*, v.115, p.111-124, 1999.

BEAM S.W. & BUTLER W.R. Energy balance effects on follicular development and first ovulation in postpartum cows. *J Reprod Fertil Suppl*, n.54, p.411-424, 1999

BEG, M.A., BERGFELT, D.R., KOT, K., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.J. Follicular-Fluid Factors and Granulosa-cell Gene Expression Associated with Follicle Deviation in Cattle. *Biol Reprod*, v.64, s.2, p.432-442, 2001.

BELLOWS R.A., GRINGS E.E., SIMMS D.D., GEARY T.W., BERGMAN J.W. Effects of feeding supplemental fat during gestation to first-calf beef heifers. *Prof Anim Scient*, v.17, p.81-89, 2001.

BICUDO, S. D., SOUZA, D. B., Associação de progestágenos, prostaglandina e eCG em protocolos de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 15, 2003, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro, 2003.

BLEACH, E. C. L., GLENCROSS, R.G., FEIST, S.A., GROOME, N.P., KNIGHT, P.G. Plasma inhibin A in heifers: Relationship with follicle dynamics, gonadotropins and steroids during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid. *Biol. Reprod.* v.64, p.743–752, 2001.

BOKEN S.L., STAPLES C.R., SOLLENBERGER L.E., JENKINS T.C., THATCHER W.W. Effect of grazing and fat supplementation on production and reproduction of Holstein cows. *J Dairy Sci*, v.88, p.4258-4272, 2005

BOLAND, M.P., LNERGA, P., OCALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, v.55, p.1323-1340, 2001.

BONDY, C., WERNER, H., ROBERTS JR, C.T., LEROITH, D. Cellular pattern of type-1 insulin-like growth factor receptor gene expression during maturation of the rat brain: comparison with insulin-like growth factors I and II. *Neuroscience*, v.46, p.909-923, 1992.

BOSSIS, I., WETTEMANN, R.P., WELTY, S.D., VIZCARRA, J., SPICER, L.J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumptions of ovulation. *Biol. Reprod.* v. 62, p.1436–1444, 2000.

BUCHOLTZ, D.C., CHIESA, A., PAPPANO, W.N., NAGATANI, S., TSUKAMURA H, MAEDA, K.I., FOSTER, D.L.Regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion by insulin in the diabetic male lamb. *Biology of Reproduction* 62 1248–1255, 2000.

BRIEN, F.D.; BAXTER, R.W.; FINDLAY, J.K.; CUMMING, I.A. Effect of lupin grain supplementation on ovulation rate and plasma follicle stimulating hormone (FSH) concentration in maiden and mature Merino ewes *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, v.11, p.237-240, 1976.

CAMP J.C., WILDT, D.E., HOWARD, P.K., STUART, L.D., CJAKRABORTY, P.K. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.*, v.28, p.673-681, 1983.

CAMPBELL, B.K., SCARAMUZZI, R.J., WEBB, R. Induction and maintenance of oestradiol and immunoreactive inhibin production with FSH by ovine granulosa cells cultures in serum-free media. *J Reprod Fertil*, v.106, p.7-17, 1996.

CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; CHEBEL, R.C.; RUTIGLIANO, H.M.; BRUNO, R.G.S.; GALVÃO, K.N.; THATCHER, W.W.; SANTOS J.E.P. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.1520-1531, 2009.

CHALUPA W., VECCHIARELLI, B., ELSE, A., KRONFELD, D.S., SKLAN, D., PALMQUIST, D.L. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. *J Dairy Sci*, v.69, p.1293-1301, 1986.

CHEMINEAU, P., NORMANT, E., RAVAUULT, J. P., THIMONIER, J. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out of season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. *Reprod Fertil*, v.78, p.497-504, 1986.

CLARKE, I.J., HORTON, R.J.E., DOUGHTON, B.W. Investigation of the mechanism by which insulin-induced hypoglycemia decreases luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*, v.127, p.1470-1476, 1990.

CONTRERAS SOLÍS, I., DÍAZ, T. LÓPEZ, G., CAIGUA, A., GRACÍA, H., SALVADOR, A., GONZÁLEZ-BULNES, A. Evaluación de la técnica de ecografía transrectal en la detección de folículos ováricos em ovejas tropicales. *Arch. Latinoam, Prod. Anim.*, v.15, p.10-14, 2007.

CUETO, M., GIBBONS, A., ALBERIO, R., TADDEO, H., GONZALES-BULNES, A. Timing of emergence of ovulatory follicles in polyovulatory goats. *Anim, Reprod, Sci.*, v.91, p.275-284, 2006.

DE CASTRO, T., RUBIANES, E., MENCHACA, A., RIVIERO, A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*, v.52, p.399-411, 1999.



DE FRIES, C.A.; NEUENDORFF, D.A.; RANDEL, R.D. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. *Journal of Animal Science*, v.76, p.864-870. 1998.

DIAS, J.C., MARTINS, J.A.M., EMERICK, L.L., SOUZA, F.A., ANDRADE, V.J. Efeitos da suplementação lipídica no aumento da eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas. *Rev Bras Reprod Anim*, v.33, n.2, p.95-104, 2009.

DICKIE, A.M., PATERSON, C., ANDERSON, J.L.M., BODY, J.S. Determination of corpora lútea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology*, v.51, p.1209-1224, 1999.

DOGAN, I., KONYALI, A., TOLU, C., YURDABAK, S. Different estrous induction protocols during the transition period in lactating Turkish saanen does following AI. *Acta Veterinaria (Beograd)*, v.58, s.2-3, p.259-266, 2008.

DOREAU, M., CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br J Nutr*, v.78, suppl. 1, p.15-35, 1997.

DOWNING, J.A., SCARAMUZZI, R.J. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J Reprod Fertil Sup.*, v.43, p.209-227, 1991.

DOWNING, J.A., SCARAMUZZI, R.J. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. *Theriogenology* v.47, p.747-759, 1997.

DOWNING, J. A., JOSS, J., CONNELL, P., SCARAMUZZI, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *J Reprod Fertil*, v.103, p.137-145, 1995a.

DOWNING, J. A., JOSS, J., SCARAMUZZI, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrus cycle. *J. Endocrinol*, v.146, p. 403-410, 1995b

DOWNING, J. A., JOSS, J., SCARAMUZZI, R.J. The effect of a direct arterial infusion of insulin and glucose on the ovarian secretion rates of androstenedione and oestradiol in ewes with an autotransplanted ovary. *Journal of Endocrinology*, v.163, p.532-541, 1999.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implication for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, v.55, p.1211-1230, 2001.

DRIANCOURT, M.A., WEBB, R., FRY, R.C. Does follicular dominance occur in ewes? *J Reprod Fertil*, v.93, p.63-70, 1991.

ECHTERNKAMP, S. E., HOWARD, R.J., ROBERTS, A.J., GRIZZLE, J., WISE, T. Relationships among concentrations of steroids, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicular fluid of beef cattle. *Biol. Reprod.* v.51, p.971–981, 1994.

ESPINOZA, J.L.; PALACIOS, A.; ORTEGA, R.; GUILLÉN, A. Efecto de la suplementación de grasas sobre las concentraciones séricas de progesterona, insulina, somatotropina y algunos metabolitos de los lípidos en ovejas Pelibuey. *Archivos de Medicina Veterinária*, v.40, p.135- 140, 2008.

ETHERTON, T. D., BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol. Rev.* v.78, p.745–761, 1998.

EVANS, A.C.O. Characteristics of Ovarian Follicle Development in Domestic Animals. *Reprod Dom Anim*, v.38, p.240-246, 2003.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C.; Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Australia: *Butterworths Pty Limited*, p. 194, 1987.

FATET, A., PELLICER-RUBIO, M.T., LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v.124, p.211-219, 2011.

FIALHO, M.P.F. & OLIVEIRA, V. Influência da suplementação com gordura no pós-parto de vacas. Artigo de revisão de literatura vencedor do I prêmio MACAL de incentivo a pesquisa em bovinocultura de corte. 2005.

FITZ-RODRIGUEZ, G., DE SANTIAGO-MIRAMONTES, M.A., SCCARAMUZZI, R.J., MALPAUX, B., DELGADILLO, J.A. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. *Anim Repro Sci.*, v.116, p.85-94, 2009.

FONSECA, J.F. Biotecnologias da reprodução em ovinos e caprinos. Separata de Documentos/EMBRAPA Caprinos. Sobral, CE, v.64, 30p., Nov 2006.

FONSECA, J.F., BRUSCHI, J.H., SANTOS, I.C.C., VIANA, J.H.M., MAGALHÃES, A.C.M. Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Anim. Reprod. Sci.* v.85, p.117-124, 2005.

FONSECA, J.F.; SOUZA, J.M.G.; BRUSCHI, J.H.; Considerações sobre a Eficiência Reprodutiva em um Sistema de Produção de Ovinos e Caprinos. Grupo de apoio à ovinocultura. *Anais. Lavras*. 2009.

FORTUNE, J.E. Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals. *Biol. Reprod.*, v.50, p.225-232, 1994.

FREITAS, V.J.F., RUBIANES, E. Detecção e Controle do Estro e da Ovulação. In: Aisen, E.G. Reprodução Ovina e Caprina. 1ª ed. MedVet, São Paulo, 2008.

GASTAL, E.L., GASTAL, O.M, BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol Reprod*, v.57, p.1320-1327, 1997.

GHERARDI, P.B. & LINDSAY, D.R. Response of ewes to lupin supplementation at different times of the breeding season. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, v.22 , p.264-267, 1982.

GHOREISHI, S.M.; ZAMIRI, M.J.; ROWGHANI, E.; et al. Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v.10, p.2389-2395, 2007.

GIBBONS, J. R., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and follicle- stimulating hormone surge in heifers. *Biol. Reprod.* v.57, p.1066–1073, 1997.

GINTHER, O. J., BEG, M.A., BERGFELT, D.R., DONADEU, F.X., KOT, K. Follicle selection in monovular species. *Biol. Reprod.* v.65, p.638–647, 2001.

GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R., KULICK, L.J., KOT, K. Selection of the Dominant Follicle in Cattle: Role of Estradiol. *Biol Reprod*, v.63, s.2, p.383-389, 2000.

GINTHER, O. J., KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, v.42, s.6, p.987-1001, 1994.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICHIE, P.M.; Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction.*, v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GLISTER, C., KEMP, C.F., KNIGHT, P.G. Bone morphogenetic protein (BMP) ligands and receptors in bovine ovarian follicle cells: Actions of BMP-4, -6, and -7 on granulosa cells and differential modulation of Smad-1 phosphorylation by follistatin. *Reproduction* v.127, p.239–254, 2004.

GONZALEZ-BULNES, A., PALLARES, P., VAZQUEZ, M.I. Ultrasonographic Imaging in Small Ruminant reproduction. *Reprod Dom Anim*, v.45, p.9-20, 2010.

GONZALES-BULNES, A., SANTIAGO-MORENO, J., GARCÍA-LÓPEZ, M., GOMEZ-BRUNET, A., LÓPEZ-SEBASTIÁN, A. Observación Del ovário en la oveja y eficacia en la detección de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografia transrectal. *Invest Agr*, v.10, p.319-329, 1994.

GRESSLER, M.A.L. & SOUZA, M.I.L. Efeitos da suplementação com gordura protegida sobre a foliculogênese ovariana de ruminantes. *Vet.zootec.*, v.3, n.2, p.70-79, 2009.

GREYLING, J.P.C. Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Ruminant Research*, v.36, p.171-177, 2000.

GRIFFIN, P.G., GINTHER, O. J. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim Sci*, v.70, p.953-972, 1992.

GRUMMER, R.R. & CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle *Journal of Animal Science*, v. 69, p. 3838–3852, 1991.

GUTIERREZ, C. G., CAMPBELL, B.K., WEBB R. Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production,

response to follicle stimulating hormone and morphological characteristics. *Biol. Reprod.* v.56, p.608–616, 1997.

GUTIERREZ, C.G., FERRARO, S., MARTINEZ, V., SAHARREA, A., CORTEZ, C., LASSALA, A., BASURTO, H., HERNANDEZ, J. Aumento na Taxa Ovulatória: mais do que uma questão de energia. Anais XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), p 303-312, 2011.

GUTIERREZ, C.G., RALPH, J.H., TELFER, E.E., WILMUT, I., WEBB, R. Growth and antrum formation of bovine antral follicles in long-term culture in vitro. *Biol Reprod*, v.62, p.1322-1328, 2000.

GUTIERREZ, C.G., OLDHAM, J., BRAMLEY, T.A., GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., WEBB, R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J Anim Sci*, v.75, p. 1876-1884, 1997.

HARUNA, S., KUROIWA, T., LU, W., ZABULI, J., TANAKA, T., KAMOMAE, H. The Effects of Short-Term Nutritional Stimulus Before and After the Luteolysis on Metabolic Status, Reproductive Hormones and Ovarian Activity in Goats. *Journal of Reproduction and Development*, v.55, n.1, 2009.

HAWKINS, D.E., NISWENDER, K.D., OSS, G.M., MOELLER, C.L., ODDE, K.G., SAWYER, H.R., NISWENDER, G.D. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J Anim Sci*, v.73, p.541-545, 1995.

HESS, B. Suplementação de gordura para vacas de corte em reprodução. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. 12, Palestras... Uberlândia, Conape Jr., Uberlândia, 2008.

HIGHTSHOE, R.B., COCHRAN, R.C., CORAH, L.R., KIRACOFÉ, G.H., HARMON, D.L., PERRY, R.C. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *J Anim Sci*, v.69, p.4097-4103, 1991.

HINCH, G.N., ROELOFS, J.H.W. Lupin feeding and insulin infusion during the late luteal phase can increase ovulation rate in sheep. *Proceedings of the Australian Society of Reproductive Biology* v.18, p.43, 1986.

HINEY, J.K., OJEDA, S.R., DEES, W.L. Insulin-like growth factor 1: a possible metabolic signal involved in the regulation of female puberty. *Neuroendocrinology*, v.54, p.420-423, 1991.

HINEY, J.K., SRIVASTAVA, V., NYBERG, C.L., OJEDA, S.R., DEES, W.L. Insulin-like growth factor 1 of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty. *Endocrinology*, v.137, p.3717-3728, 1996.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Sistema IBGE de Recuperação automática (SIDRA)- Censo agropecuário, 2009.

INGVARTSEN, K.L., ANDERSEN, J.B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* v.83, p.1573–1597, 2000.

KARACA, F., DOĞRUEK, G., SARIBAY, M. K., ATEŞ, C.T. Oestrus synchronization with short-term and long-term progestagen treatments in goats: the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment. *Italian J. of animal science*, v.9, p.1, 2010.

KEELE, J.W., ROFFLER, R.E., BEYERS, K.Z. Ruminal metabolism in nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans. *J Anim Sci*, v.67, p.1612-1619, 1989.

KIRCHICK, H.J., KEYES, P.L., FRYE, B.E. Restoration of the LH surge and ovulation by insulin in alloxan-diabetic immature rats treated with pregnant mare's serum gonadotrophin. *Acta Endocrinologica* v.100, p.266–273, 1982.

KNIGHT, T.W.; PAYNE, E.; PETERSON, A.J. Effect of diet and liveweight on FSH and oestradiol concentrations in Romney ewes. *Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology*, v. 13, Abstract 19, 1981.

KO, J.C.H., KASTELIC, J.P., DEL CAMPO, M.R., GINTHER, O.J. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. *J. Reprod. Fert.*, v.91, p.511-519, 1991.

KOJIMA, F.N, BERFELD, E.G.M., WEHRMAN, M.E., CUPP, A.S., FIKE, K.E., MARISCAL-AGUAYO, D.V. ET AL. Frequency of hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentration of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Rerod Sci*, v.77, p.187-211, 2003.

KULICK, L.J., KOT, K., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*, v.52, p.913-921, 1999.

KUMAR, S. & PUROHIT, G. N. Effect of a single subcutaneous injection of melatonin on estrous response and conception rate in goats. *Small Rum Res*, v.82, p.152-155, 2009.

LAMMOGLIA, M.A., WILLARD, S.T., HALLFORD, D.M., RANDEL, R.D. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 $\beta$ , 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J Anim Sci*, v.75, p.1591-1600, 1997.



LANDAU, S., BOR, A., LEIBOVICH, H., ZOREF, Z., NISTAN, Z., MADAR, Z. The effect of ruminal starch degradability in the diet of boorola crossbreed ewes on induced ovulation rate and prolificacy. *Anim. Reprod. Sci.*, v.38, p.977-108, 1995.

LANDAU, D.J., MOLLE, G. Nutrition effects on fertility in small ruminants with an emphasis on Mediterranean sheep breeding systems. In: Recent advances in small ruminant nutrition proc. CIHEAM-IAMZ meeting. Zaragoza, Espanha, p. 203-216, 1997.

LEESE, H.J., BARTON, A.M., Pyruvate and glucose uptake by mouse ova and preimplantation embryos. *J Reprod Fertil*, v72, p.9-13, 1984.

LEROY, J.L.M.R., VANHOLDER, T., DELANGHE, J.R., OPSOMER, G., VAN SOOM, A., BOLS, P.E.J., et al. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*, v.62, p.1131–1143, 2004.

LETELIER C., MALLO F., ENCINAS T., ROS J. M. & GONZALEZ-BULNES A. Glucogenic supply increases ovulation rate by modifying follicle recruitment and subsequent development of preovulatory follicles without effects on ghrelin secretion. *Reproduction Research*. v.136(1), p. 65–72, 2008.

LEURY, B.J., MURRAY, P.J., ROWE, J.B. Effect of nutrition on the response in ovulation rate in Merino ewes following short-term lupin supplementation and insulin administration. *Australian Journal of Agricultural Research* v.41, p.751-759, 1990.

LIGTVOET, C.M., BOM, N., GUSSENHOVEN, W.J. Thecnical principles of ultrasound. In: TEVERNE, M.A.M., WILLEMSE, A.H. (Ed) Diagnostic Ultrasound and Animal Reproduction. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. p.1-9, 1989.

LOPEZ, H., SARTORI, R., WILTBANK, M.C. Reproductive Hormones and Follicular Growth During Development of One or Multiple Dominant Follicles in Cattle. *Biol Reprod*, v.72, p.788-795, 2004.

LUCY, M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropins and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci.* v.83, p.1635–1647, 2000.

LUCY, M.C., DE LA SOTA, R.L., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy *Journal of Dairy Science* 76 1014–1027, 1993.

MACHADO, R., SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial em caprinos no Brasil: estágio atual. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.19, p.61-72, 1995.

MACKEY, D. R., SCREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. Effect of acute nutritional restriction on the incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol. Reprod.* v.61, p.1601–1607, 1999.

MAIA, K.M., BEZERRA, A.C.D.S. Controle do Ciclo Estral em Caprinos: Revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, p.14-19, 2010.

MALPAUX, B., VIGUIÉ, C., SKINNER, D.C., THIÉRY, J.C., PELLETIER, J., CHEMINEAU, P. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.*, v.42, p.109-117, 1996.

MAMLUK, R., GREBER, Y., MEIDAN, R. Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid expression for steroidogenic factor-1, steroidogenic acute regulatory protein, and cytochrome P450 side-chain cleavage in bovine luteal cells. *Biology of Reproduction* v.60, p.628–634, 1999.

MANCIO, A.B., LONDOÑO-HERNÁNDEZ, F.I., FONSECA, F.A.; ÂNGULO, L.M. Fontes lipídicas dietéticas associadas ou não à gonadotrofina coriônica humana (hCG) na função reprodutiva e no metabolismo de lípidos de novilhas. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.51, p.163-170, 1999.

MANN, G.E., LAMMING, G.E., FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Animal Reproduction Science*, v. 37, p. 121-131, 1995.

MARION, G.B., GIER, H.T. Ovarian and uterine embryogenesis and morphology of the non-pregnant female mammal. *J. Anim. Sci.*, v.32, p.24-47, 1971.

MATTOS, R., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction*, v.5, p.38-45, 2000.

MCCANN, J. P., HANSEL, W. Relationship between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian function in fasted heifers. *Biol. Reprod.* v.34, p.630–641, 1986.

MCCLURE, T. J., NANCARROW, C. D., RADFORD, H.M. The effect of 2-deoxy-D-glucose on ovarian function of cattle. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.31, p.183, 1978

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C.; Luteolysis: a Neuroendocrine-mediated event. *Physiological Reviews*, v.79(2), p. 263 – 304, 1999.

MCEVOY, T.G., ROBINSON, J.J., AITKEN, R.P., FINDLAY, P.A., PALMER, R.M., ROBERTSON, I.S. Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Anim Reprod Sci.*, v.39, p.89-107, 1995 .

MCGUIRE, M. A., VICINI, J.L., BAUMAN, D., VEENHUIZEN, J.J. Insulin-like growth factors and their binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J. Anim. Sci.* v.70, p.2901–2910, 1992.

MEDAN, M.S., WATANABE, G., SASAKI, K., GROOME, N.P., SHARAWY, S., TAYA, K. Follicular and Hormonal Dynamics during the Estrous Cycle in Goats. *J. Reprod. Dev.*, v.51, p.455-463, 2005.

MEDAN, M.S., WATANABE, G., SASAKI, K., SHARAWY, S., GROOME, N.P., TAYA, K. Ovarian Dynamics and Their Associations with Peripheral Concentrations of Gonadotropins, Ovarian Steroids, and Inhibin During the Estrous Cycle in Goats. *Biol. Reprod.*, v.69, p.57-63, 2003.

MENCHACA, A., MILLER, V., SALVERAGLIO, V., RUBIANES, E. Endocrine, luteal and follicular responses after use of the short-term protocol to synchronize ovulation in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 102, p.76-87, 2007.

MENCHACA, A., PINCZAK, A., RUBIANES, E. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on Day 0 or Day 3 postovulation in goats. *Theriogenology*, v.58, p.1713-1721, 2002.

MIHM, M., AUSTIN, E.J., GOOD, T.E.M., IRELAND, J.L.H., KNIGHT, P.G., ROCHE, J.F., et al. Identification of potential intra follicular factors involved in selection of dominant follicles in heifers. *Biol Reprod*, v.63, p.811-819, 2000.

MIHM, M., GOOD, T.E.M., IRELAND, J.L.H., IRELAND, J.J., KNIGHT, P.G., ROCHE, J.F. Decline in Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations Alters Key Intrafollicular Growth Factors Involved in Selection of the Dominant Follicle in Heifers. *Biol Reprod.*, v.57, p.1328-1337, 1997.

MILLER, D.W., BLACHE, D., BOUKHLIQ, R., CURLEWIS, J.D., MARTIN, G.B. Central metabolic messengers and the effects of nutrition on gonadotrophin secretion in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* v.112, p.347–356, 1998.

MOALLEM, U., KATZ, M., LEHRER, H., LIVSHITZ, L., YAKOBY, S. Role of peripartum dietary propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. *J Dairy Sci*, v.90, p.1243-1254, 2007.

MOLLE, G., BRANCA, A., LIGIOS, S., SITZIA, M., CASU, S., LANDAU, S., ZOREF, Z. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in Sarda ewes. *Small Rum. Res.*, v.17, p.245-254, 1995.

MOLLE, G., LANDAU, S., BRANCA, A., SITZIA, M., FOIS, N., LIGIOS, S., CASU, S. Flushing with soybean meal can improve reproductive performances in lactating Sarda ewes on a mature pasture. *Small Rum Res.*, v.24, p.157-165, 1997.

MOLENTO, C. F. M., BLOCK, E., CUE, R.I., PETICLERC, D. Effects of insulin, recombinant bovine somatotropin, and their interaction on insulin-like growth factor-I secretion and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.85, p.738–747, 2002.

MONGET, P., MARTIN, G.B. Involvement of insulin-like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female mammals. *Human Reprod.* v.12, s.1, p.33–51, 1997.

MORAES, J.C.F., SOUZA, C.J.H., GONÇALVES, P.B.D., FREITAS, V.J.F., LOPES JÚNIOR, E.S. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: Gonçalves, P.B.D., Figueiredo, J.R., Freitas, V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2ª Ed. Roca, São Paulo, 2008.

MORIMOTO, S., FERNANDEZ-MEJIA, C., ROMERRO-NAVARRO, G., MORALES-PEZA, N., DIAZ-SANCHEZ, V. Testosterone effect on insulin content, messenger ribonucleic acid levels, promotor activity, and secretion in rats. *Endocrinology* v.142, p.1442–1447, 2001.

MUÑOZ-GUTIÉRREZ, M., BLACHE, D., MARTIN, G.B., SCARAMUZZI, R.J. Folliculogenesis and ovarian expression of mRNA encoding aromatase in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction*, v. 124, p.721-731, 2002.

MURPHY, M.G., ENRIGHT, W.J., CROWE, M.A., MCCONNELL, K., SPICER, L.J., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.92, p.333-338, 1992.

NASCIMENTO, P.M.P. *Indução de estro sincronizado em cabras da raça Toggenburg com protocolos de curta, média e longa duração durante as estações de anestro estacional e acasalamento*. 65p. Niterói, RJ: Universidade Federal Fluminense, 65p. Dissertação (Master of Science) – Universidade Federal Fluminense, 2008.

NICHOLAS, B., SCOUGALL, R.K., ARMSTRONG, D.G., WEBB, R. Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) isoforms during bovine follicular development. *Reproduction*, v.124, p.439-446, 2002.

NOGUEIRA, E. *Efeitos da suplementação energética e lipídica no perfil metabólico, desenvolvimento folicular e produção in vitro de embriões em novilhas da raça Nelore (Bos taurus indicus)*. 2008. 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2008.

NOTTLE, M.B., ARMSTRONG, D.T., SETCHELL, B.P., SEAMARK, R.F. Lupin feeding and folliculogenesis in the Merino ewe. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia*, v.10, p. 145, 1985

NOTTLE, M.B., SEAMARK, R.F., SETCHELL, B.P. Feeding lupin grain for six days prior to a cloprostenol-induced luteolysis can increase ovulation rate in sheep irrespective of when in the oestrus cycle supplementation commences. *Reproduction Fertility and Development*, v.2, p.189-192, 1990.

O'CALLAGHAN, D., YAAKUB, H., HYTTEL, P., SPICER, L.J., BOLAND, M.P. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *Reproduction*, v.118, p.303-313, 2000.

OHKURA, S., TANAKA, T., NAGATANI, S., BUCHOLTZ, D.C., TSUKAMURA, H., MAEDA, K.I., FOSTER, D.L. Central, but not peripheral, glucose-sensing mechanism mediate glucoprivic suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in the sheep. *Endocrinology*, v. 141, p.4472-4480, 2000.

OLDHAM, C.M. & LINDSAY, D.R. The minimum period of intake of lupin grain required by ewes to increase their ovulation rate by grazing dry summer pasture. In: *Reproduction in sheep*. Lindsay, D.R., Pearce, D.T. Australian Academy of Science Australian Wool corporation, pp.274-276, 1984

OKAMURA, H.; OHKURA, S. Neuroendocrine control of reproductive function in ruminants. *Animal Science Journal*, v.78, p.105-111, 2007.

PADNAMABHAM et al. Neuroendocrine Control of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Secretion. I. Direct Evidence for Separate Episodic and Basal Components of FSH Secretion. *Endocrinology*, v.138, p.424-432, 1997.

PARR, R.A., DAVIS, I.F., MILES, M.A., SQUIRES, T.J., Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res Vet Sci*, v.55, p.311-316, 1993.

PARR, R.A., DAVIS, I.F., SQUIRES, T.J., MILES, M.A. Influence of lupin feeding before and after joining on plasma progesterone and fertility in Merino ewes. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, v.19, p.185-187, 1992.

PIERSON, J.T., BALDASSARRE, H., KEEFER, C.L., DOWNEY, B.R. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology*, v.60, p.397-406, 2003.

POFF, J.P., FAIRCHILD, D.L., CONDON, W.A. Effects of antibiotics and medium supplements on steroidogenesis in cultured cow luteal cells. *J. Reprod. Fertil.* v.82, p.135–143, 1998.

PORETSKY, L., KALIN, M.F. The gonadotropic function of insulin. *Endocrine Reviews* v.8, p.132–141, 1987.

PORETSKY, L., CATALDO, N.A., ROSENWAKS, Z., GIUDICE, L.C. The insulin related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrinology Review* 20, 535-582, 1999.

RABIEE, A.R., LEAN, I.J., GOODEN, J.M., MILLER, B.G. Short-term studies of ovarian metabolism in the ewe. *Animal Reproduction Science* 47, 43-58, 1997.

RADFORD, H.M.; DONEGAN, S.; SCARAMUZZI, R.J. The effect of supplementation with lupin grain on ovulation rate and plasma gonadotrophin levels in adult merino ewes. *Animal Production in Australia*, v.13, p.457, 1980.



RAJAKOSKI, E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Ada endocr., Copenh.*, Suppl 52, v.1, p.68, 1960.

RAUSCH, M. I., TRIPP, M.W. GOVONI, K.E., ZANG, W., WEBER, W.J., CROOKER, B.A., HOAGLAND, T.A., ZINN, S.A. The influence of level of feeding on growth and serum insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding proteins in growing beef cattle supplied with somatotropin. *J. Anim. Sci.* v.80, p.94–100, 2002.

REGUEIRO, M., PÉREZ CLARIGET, R., GANZÁBAL, A., ABA, M., FOSBERG, M. Effect of medroxyprogesterone acetate and eCG treatment on the reproductive performance of dairy goats. *Small Rumin. Res.*, v.33, p.223-230, 1999.

RHIND, S.M. & MCNEILLY, A.S. Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in Scottish blackface ewes in high and low levels of body condition. *Animal Reproduction Science*, v.10, p.105-115, 1986.

RHIND, S.M., MCNEILLY, A.S. Effects of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.*, v.52, p.131-138, 1998.

RHIND, S.M., MCMILLEN, S., WETHERRIL, G.Z., MCKELVEY, W.A.C., GUNN, R.G. Effects of low levels of food intake before and/or after mating on gonadotrophin and progesterone profiles in greyface ewes. *Anim prod*, v.49, p.267-273, 1989.

RIBEIRO, S. D. A. Caprinocultura: Criação racional de caprinos, 1997.

RICARTE, A.R.F., SILVA, A.R. Morfofisiologia da reprodução de caprinos: revisão. *Acta veterinária brasileira*, v.4, p.s8-s13, 2010.

RICHARDS, J.S., JAHNSEN, T., HEDIN, L., LIFKA, J., RATOOSH, S., DURICA, J.M., GOLDRING, N.B. Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res*, v.43, p.231-276, 1987.

ROBERTSON, H.A. *Reproduction in Domestic Animals*, 3<sup>a</sup> ed., 665p., Cap.18 Reproduction in the ewe and the goat, p.475-498, 1977.

ROBINSON, T.J., The control of ovarian cycle in the sheep. Sydney: Sydney University Press, 1967 p. 258. IN: K.M., BEZERRA, A.C.D.S. Controle do Ciclo Estral em Caprinos: Revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, p.14-19, 2010.

ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, v.126, p. 259–276, 2006.

ROBINSON, R.S., PUSHPAKUMARA, P.G.A., CHENG, Z., PETERS, A.R., ABAYASEKARA, D.R.E., WATHES, D.C. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian function in lactating dairy cows. *Reproduction*, v.124, p.119-131, 2002.

ROBINSON, J.J., ROOKE, J.A., MCEVOY, T.G. Nutrition for conception and pregnancy. In: FREE, M., DOVE, H., (Eds.), *Sheep nutrition*. CABI publishing; CSIRO publishing, Canberra, p. 189-211, 2002.

ROSA, H.J.D., BRYANT, M.J. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin. Res.*, v.48, p.155-171, 2003.

RUBIANES, E. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología*. v.6, p.93-103, 2000.

RUBIANES, E., MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, p.271-287, 2003.

RYAN, D.P., BAO, B., GRIFFITH, M.K., WILLIAMS, G.L. Metabolic and luteal squealed to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrus beef cows induced to ovulate. *J Anim Sci*, v.73, p.2086-2093, 1995.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística a experimentação animal. Belo Horizonte. Fundação de e Pesquisa em Medicina Veterinária, 2002.

SANCHEZ, B. Ácidos graxos na nutrição e reprodução de vacas em lactação. In: Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 7, 2003, Uberlândia, MG. *Anais...* Uberlândia: Conapec Jr; Jaboticabal: UNESP, 2003. p.103–115.

SANGHA, G.K., SHARMA, R.K., GURAYA, S.S. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research*, v. 43, p. 53-64, 2002.

SANTOS, J.E.P. Efeitos da nutrição na reprodução bovina. In: Congresso Brasileiro de Raças Zebuínas, 3, 1998, Uberaba, MG. *Anais...* Uberaba: ABCZ, 1998. p.24-75.

SANTOS, J.E.P.; BILBY, T.R.; THATCHER, W.W.; et al. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v.43, p.23-30, 2008.

SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; MARTIN, G.B.; McNATTY, K.P.; McNEILLY, A.S.; TSONIS, C.G.; A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 5, p. 459-478, 1993.

SCARAMUZZI, R.J.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; KENDALL, N.R.; KHALID, M.; GUTIÉRREZ, M.M.; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, v.46, s.4, p.339-354, 2006.

SCHIDAIFAT, F. Effect of Activin-A on goat granulosa cell steroidogenesis. *Theriogenology*, v.56, p.591-599, 2001.

SEEKALLU S., TOOSI B., DUGGAVATI R., BARRETT D., DAVIES K., WALDNER C., RAWLINGS N. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*. v.73, p.670-680, 2010.

SELNER, D.R. & SCHULTZ, L.H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. *J Dairy Sci*, v.63, p.1235-1241, 1980.

SILVIA, W.J. The role of uterine and ovarian hormones in luteolysis: a comparison among species. *Reproduction in Domestic Animals*, v.34, p.317-328, 1999.

SIMPLÍCIO, A. A., FREITAS, V. J. F., FONSECA, J. F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*,v.31, p.234-246, 2007.

SIMPLÍCIO, A.A., SANTOS, D.O., SALLES, H.O. Manejo de caprinos para produção de leite em regiões tropicais. *Ciência Animal*, v.10, p.13-27, 2000.

SISK, C.L., FOSTER, D.L. The neural basis of puberty and adolescence. *Nat. Neurosci.*, v.10, p.1040-1047, 2004.

SMITH, A.J., STEWART, R.D. Effects of nutrition on the ovulation rate of ewes. In: *Reproductive physiology of Merino sheep concepts and consequences*. Oldham C.M., Martin G.B., Purvis I.W. (eds), School of Agriculture (Animal Science). *The University of Western Australia*, p. 85-101, 1990.

SOLDANI, R., CAGNACCI, A., YEN, S.S., Insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-II enhance basal and gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from rat anterior pituitary cells in vitro. *Eur J Endocrinol*, v.131, p.641-645, 1994.

SOMCHIT, A., CAMPBELL, B.K., KHALID, M., KENDALL, N.R., SCARAMUZZI, R.J. The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology*, v. 68, p. 1037-1046, 2007.

SPICER, L. J., CHAMBERLAIN, C.S., MACIEL, S.M. Influence of gonadotropins on insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I)-induced steroid production by bovine granulosa cells. *Domest. Anim. Endocrinol.* v.22, p.237–254, 2002.

SPICER, L.J., ECHTERNKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Dom. Anim. Endocrinol.* v.12, p.233-245, 1995.

STAPLES, C.R., BURKE, J.M., THATCHER, W.W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows *Journal of Dairy Science* 81 856–871, 1998.

STEWART, R., OLDHAM, C.M. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Anim prod aust*, v16, p.367-369, 1986.

STEWART, R.E., SPICER, L.J., HAMILTON, T.D., KEEFER, B.E. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *J. Anim. Sci.*, v.73 p.3719–3731,1995.

STURMEY, D.G.; REIS, A.; LEESE, H.J.; et al. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. *Reproduction in Domestic Animals*, v.44, p.50- 58, 2009.

SUGUNA, K., MEHROTRA, S.,AGARWAL,S.K., HOQUE, M., SHANKER, U., SINGH, S.K., VARSHNEY, V.P. Effect of exogenous insulin administration on ovarian function, embryo fetal development during pregnancy ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.111, p.202-213, 2009.

TAINTURIER, D., LIJOUR, L., CHAARI, M., SARDJANA, K.W., DENIS, B. Diagnostic de la gestation chez la brebis par échotomographie. *Rec Méd Vét.* 1983a.134:523–526. In: GONZALEZ-BULNES, A., PALLARES, P., VAZQUEZ, M.I. Ultrasonographic Imaging in Small Ruminant reproduction. *Reprod Dom Anim*, v.45, p.9-20, 2010.

TAINTURIER, D., LIJOUR, L., CHAARI, M., SARDJANA, K.W., LENET, J.L. Diagnostic de la gestation chez la chèvre par échotomographie. *Rec Méd Vét.* 1983b. 134:597–599. In: GONZALEZ-BULNES, A., PALLARES, P., VAZQUEZ, M.I. Ultrasonographic Imaging in Small Ruminant reproduction. *Reprod Dom Anim*, v.45, p.9-20, 2010.

TELENI, E., KING, W.R., ROWE, J.B., MCDOWELL, G.H. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Australian Journal of Agricultural Research* v.40, p.913-924, 1989.

THIMONIER, J. Determination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *INRA Prod. Anim.*, v.13, n. 3, p.177-183, 2000.

THOMAS, M.G., BAO, B., WILLIAMS, G.L. Dietary fats varying in their fatty acids composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J Anim Sci* v.75, p. 2512–2519, 1997.

THOMAS, M.G. & WILLIAMS, G.L. Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated and polyunsaturated fatty acids *Theriogenology*, v. 45, p. 451–458, 1996.

TITI, H.H. & AWAD, R. Effect of dietary fat supplementation on reproductive performance of goats. *Animal Reproduction*, v.4, n.1-2, p.23- 30, 2007.

TRALDI, A. S. Biotécnicas Aplicadas em Reprodução de Pequenos Ruminantes. In: III FEINCO. São Paulo, 11p., 2006.

TRALDI, A.S., LOUREIRO, M.F.P., CAPEZZUTO, A., MAZORRA, A.L. Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos. *Ver Bras Reprod Anim*, v.31, s.2, p.254-260, 2007.

TSONIS, C.G., CAHILL, L.P., CARSON, R.S., FINDLAY, J.K. Identification at the onset of luteolysis of follicles capable of ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, v.70, p.609-614, 1984.

VALADARES FILHO, S. de C.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPPELE, E. R. TABELAS BRASILEIRAS DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS PARA BOVINOS. Viçosa: UFV; DZO: DPI, 2001. 297p. : il

VAN HOUTEN, M., POSNER, B.I., KOPRIWA, B.M., BRAWER, J.R. Insulinbinding sites in the rat brain: in vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. *Endocrinology* v.105, p.666–673, 1979.

VENTER, J.L. & GREYLING, J.P.C., Effect of different periods of flushing and synchronized mating on body weight, blood glucose and reproductive performance in spring-mated ewes. *Small Rumin Res*, v.13, p.257-261, 1994.

VENTURI, S.S. *Efeito da suplementação alimentar sobre os parâmetros reprodutivos de ovelhas da raça Santa Inês*. 98p. Niterói, RJ: Universidade Federal Fluminense, 98p. Dissertação (Master of Science) – Universidade Federal Fluminense, 2011.

VIÑOLES, C. *Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe*. Doctoral thesis. Faculty of Veterinary Medicine , Uppsala, 2003.

VIÑOLES, C., FORSBERG, M., MARTIN, G.B., CAJARVILLE, C., REPETTO, J, MEIKLE, A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*, v.129, p.299-309, 2005.

VIÑOLES, C., MEIKLE, A., MARTIN, G.B. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.113, p.82-92, 2009.

VIÑOLES, C., PEREIRA, D. & PALERMO, B. Oestrus synchronization associated with flushing effect in Corriedale ewes during late joining. *Proceedings of the XXX National Buiatrics Congress*, Paysandú, Uruguay, p.219-222, 2002.



WALTERS, D.I., SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrus cycle in cow. *J Reprod Fert*, v.71, p.503-512, 1984.

WEBB, R., GARNSWORTHY, P.C., GONG, J.G., ARMSTRONG, D.G. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci*, v.82, p.63-74, 2004.

WENTZEL, D. Improved small stock production collaboration between scientist and producer. *S. Afr. J. Anim. Sci*, v.16, p.123-126, 1986.

WHITLEY, N. C. & JACKSON, D. J. An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *J. Anim. Sci.*, v.82, p.270-276, 2004.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.*, v.77, p.1-14, 2000.

WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J Anim Sci*, v.67, p.785-793, 1989.


WILLIAMS, G.L. Suplementação de gordura na dieta como estratégia para aumento da eficiência reprodutiva em bovinos. In: Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, Uberlândia, MG. *Anais...* Uberlândia: Conape Jr; Botucatu: UNESP, 2001. p.95-101, 2001.


ZABULI, J., TANAKA, T., LU, W., KAMOMAE, H. Intermittent nutritional stimulus by short-term treatment of high-energy diet promotes ovarian performance together with increases in blood levels of glucose and insulin in cycling goats. *Anim reprod sci*, v.122, p.288-293, 2010.

ZABULI, J., TANAKA, T., LU, W., KUROIWA, T., KAMOMAE, H. Responses of gonadotropin secretion to short-term dietary supplementation in ovariectomized goats with different body weights. *Anim Reprod Sci*, v.116, p.274-281, 2009.


## 7 ANEXOS

### Anexo 1 – Certificado de aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFF

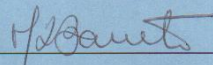




Serviço Público Federal  
Universidade Federal Fluminense  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comitê de Ética em Pesquisa Animal

ertificamos que o projeto nº 00109/09, intitulado “ESTUDOS SOBRE O USO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CAPRINOS DE APTIDÃO LEITEIRA VISANDO AUMENTO DA PRODUTIVIDADE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO” sob a orientação da Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão (pesquisador responsável) da FACULDADE DE VETERINÁRIA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal do COBEA e obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) em três de julho de 2009.

Niterói, 17 de agosto de 2009.

  
\_\_\_\_\_  
Presidente do C.E.P.A.

**Anexo 2 Parâmetros avaliados para a determinação do escore da condição corporal**

<b>Escore</b>	<b>Processo espinhoso</b>	<b>13<sup>a</sup> Costela</b>	<b>Garupa</b>
<b>1</b>	Proeminente e pontuda.	O final é pontiagudo e fácil sentir os espaços entre, sobre e envolta das costelas.	Fina, a superfície tende a ser côncava.
<b>2</b>	Proeminente mas macia.	Final macio e arredondado; pode-se sentir os espaços entre, sobre e envolta das costelas amaciados.	Razoavelmente profunda com a superfície tendendo a ser plana.
<b>3</b>	Pode ser sentida, mas macia e arredondada.	Final arredondado e com boa cobertura, uma pressão firme é necessária para sentir os espaços entre e abaixo das costelas.	Repleta e arredondada.
<b>4</b>	Detectável com pressão.	Com pressão firme as costelas podem ser sentidas individualmente.	Repleta e com uma camada de cobertura de gordura.
<b>5</b>	Pode ser sentida com pressão firme.	Não podem ser sentidas, nem mesmo com firme pressão.	O músculo não pode ser sentido devido a uma espessa camada de gordura.

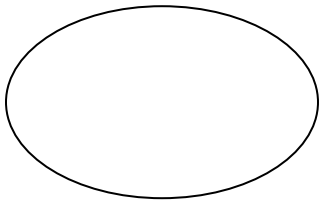
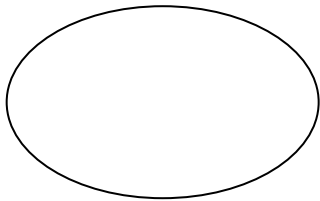
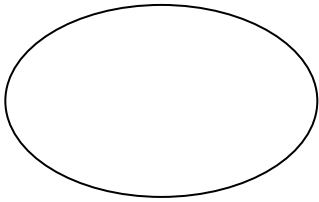
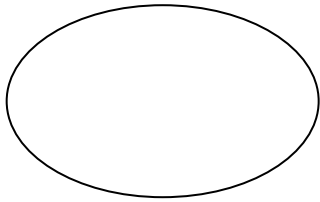
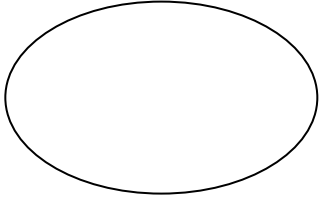
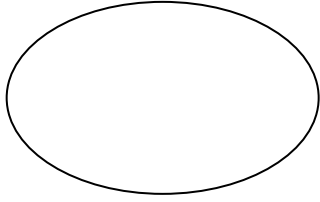
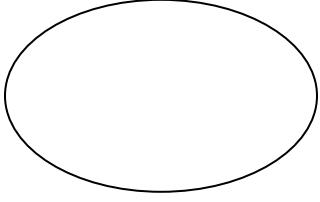
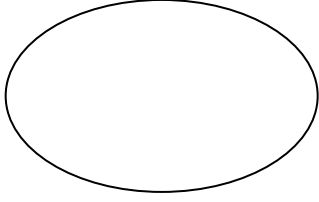
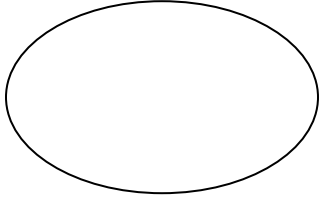
Fonte: Suiter, 2004

**Anexo 3 - Folha de avaliação ultrassonográfica**

NÚMERO ANIMAL:

Ovário esquerdo

Ovário direito

Data: Hora: 	Data: Hora: 
Data: Hora: 	Data: Hora: 
Data: Hora: 	Data: Hora: 
Data: Hora: 	Data: Hora: 
Data: Hora: 	Data: Hora: 